مجله دنیای میکروب‌ها
سال ششم شماره دوم (پیاپی ۱۵) تابستان ۱۳۹۲
صفحات ۱۰۴-۹۱

Original Article

بررسی اپیدمیولوژی مولکولی و مقاومت های آنتی بیوتیکی سویه های *اسینتوباکتربامانی* جدا شده از بیمارستان نمازی شیراز با روش آنالیز اصلاح شده AFLP

نجمه علایی*[۱]، عباس بهادر[۲]، ناصر هرزندی[۳]

[۱] کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی، [۲] استادیار، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی، [۳] استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی

چکیده

سابقه و هدف: امروزه *اسینتوباکتر بامانی* به دلیل افزایش سریع مقاومت به طیف گسترده ای از آنتی بیوتیک ها و نیز ایجاد عفونت های مشهور بیمارستانی با میزان مرگ و میر بالا، مشکلات زیادی را در سیستم درمان ایجاد نموده است. هدف از این پژوهش، بررسی اپیدمیولوژیکی سویه های *اسینتوباکتر بامانی* جمع آوری شده از بیمارستان نمازی شیراز، به روش AFLP و تعیین سطح مقاومت آنتی بیوتیکی برای طراحی برنامه درمانی مناسب بود.

مواد و روش ها: این پژوهش به صورت مقطعی - توصیفی بر روی سویه های *اسینتوباکتر بامانی* به دست آمده از ۷ واحد مختلف مراقبت های ویژه در بیمارستان نمازی شیراز انجام شد. تمامی جدایه های احتمالی به وسیله کیت های NE20API شناسایی شدند. مقاومت دارویی سویه ها نسبت به ۲۰ آنتی بیوتیک مختلف با روش میکروبراث دایلوشن بررسی گردید. به منظور طبقه بندی فنوتیپی سویه ها با استفاده از نتایج به دست آمده، آنتی بیودندروگرام توسط نرم افزار SPSS طراحی شد. سپس آنالیز AFLP با هضم DNA سویه ها به وسیله آنزیم های *MboI* و *MseI* ، اتصال آداپتورهای طراحی شده، تکثیر اولیه و تکثیر انتخابی توسط پرایمرهای اختصاصی انجام گردید.

یافته ها: در این مطالعه ۵۴٪ (۴۶ مورد) از سویه های *اسینتوباکتر بامانی* از نوع MDR، ۴۳٪ (۳۶ مورد) از نوع XDR و ۲٪ (۲ مورد) از نوع PDR بودند. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی حضور برجسته سویه های مقاوم به ایمی پنم (۵۱٪) و مروپنم (۷۶٪) را نشان داد. هچنین نتایج AFLP نشان دهنده سه خوشه اصلی (۱، ۳ و ۴) بود که با شیوع عفونت های مختلف بیمارستانی ارتباط داشت.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که تکثیر بالای سویه های *اسینتوباکتر بامانی* و انتقال مقطعی سویه ها در بین بخش های مختلف بیمارستان نمازی شیراز، موجب افزایش مقاومت دارویی و بروز شیوع های گسترده در بیمارستان شده است. بنابراین توجه به برنامه های مراقبتی متناسب با داده های به دست آمده از تحقیق اخیر در کنترل عفونت و درمان ضروری می باشد.

واژگان کلیدی: *اسینتوباکتر بامانی*، AFLP، آنتی بیودندروگرام.

دریافت مقاله: بهمن ماه ۹۱ پذیرش برای چاپ: اردیبهشت ماه ۹۲

مقدمه

اهمّیت بالینی و گسترش *اسینتوباکتر بامانی* (*Acinetobacter baumannii*) مقاوم به چند دارو (Multidrug-Resistant (MDR)) به عنوان یک پاتوژن بیمارستانی مهم نوظهور، به ویژه در واحد مراقبت های ویژه (ICUs) رو به افزایش است

* آدرس برای مکاتبه: کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه میکروب شناسی
تلفن: ۰۹۳۵۵۸۹۵۵۱۴ پست الکترونیک: alaee.na@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

(۱ و ۲). این باکتری به طیف گسترده ای از آنتی بیوتیک ها مقاوم بوده و توانایی بالایی در زنده ماندن در محیط برای مدت طولانی دارد. به همین دلیل امروزه این باکتری پس از سودوموناس (*Pseudomonas*) به عنوان دومین پاتوژن معمول غیر تخمیری جداسازی شده از بیمارستان با میزان مرگ و میر ۲۰ تا ۶۰ درصد شناخته شده است (۳). یافته ها نشان می دهند که از میان باکتری های گرم منفی بیمارستانی، *اسینتوباکتر بامانی* با سرعت بیشتری به ایزوله های مقاوم دارویی تبدیل شده است (۴). به طوری که این سویه ها با کسب و به کارگیری مکانیسم های متعدد مقاومت های آنتی بیوتیکی (۵) به سویه های XDR (Extensively Drug-Resistant) (۶) و اخیراً PDR (Pan Drug Resistant) تبدیل شده اند (۷). تا سال ۲۰۰۲، کاربانم ها به عنوان آنتی بیوتیک هایی وسیع الطیف، با سمیت اندک بهترین درمان عفونت های باکتریایی مقاوم به دارو (از جمله *اسینتوباکتر بامانی*) به شمار می رفتند (۸). اما در سال های اخیر، مطالعات مختلف، حاکی از افزایش انتشار سویه های *اسینتوباکتر بامانی* مقاوم به کاربانم ها در سراسر جهان می باشند (۹). تکنیک طبقه بندی ژنومی چند شکلی در طول قطعات ازدیاد یافته (AFLP= Amplified Fragment Length Polymorphism) بر اساس ردیابی قطعات محدود ژنومی به وسیله PCR می باشد. در این روش انگشت نگاری هایی بدون اطلاعات قبلی از توالی DNA، با استفاده از تعداد محدودی از پرایمر های ژنتیکی انجام می گردد. تعداد قطعات آشکار شده در یک واکنش واحد می تواند از طریق تکثیر انتخابی مجموعه های پرایمری معین تنظیم شود. تکنیک AFLP در مقایسه با RFLP (Fragment Length Polymorphism Restriction) روشی قدرتمند و معتبر می باشد. زیرا شرایط واکنش برای اتصال پرایمر به دقت به کار برده شده است. اما اعتبار روش RFLP وابسته به قدرت تکنیک PCR می باشد (۱۰ و ۱۱). در مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران جدایه های *اسینتوباکتر بامانی* جمع آوری شده از بیماران بستری، با استفاده از روش AFLP از نظر ساختار جمعیت، منشا شیوع از نظر مکانی و نوع نمونه های عفونی بررسی گردیدند. همچنین الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی و حضور سویه های XDR و PDR در میان سویه های *اسینتوباکتر* به منظور تعیین سطح مقاومت دارویی این ارگانیسم و طراحی برنامه درمانی موثر مشخص گردید.

مواد و روش‌ها

الف) بیماران و تشخیص جدایه ها: این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی بر روی ایزوله های بالینی جمع آوری شده از عفونت های متعدد در هفت واحد مختلف مراقبت های ویژه در بیمارستان نمازی شیراز شامل بخش های داخلی، مرکزی، جراحی، مغز و اعصاب، پیوند و نوزادان، در دوره زمانی ۱۳۹۰-۱۳۸۹ انجام شد. سویه های بالینی *اسینتوباکتر بامانی* پس از کشت و خالص سازی، به وسیله کیت های API 20NE (بیومریکس فرانسه) تعیین هویت گردیدند. *ب) تست حساسیت آنتی بیوتیکی:* به منظور تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی از روش میکروبراث دایلوشن بر اساس روش توصیه شده توسط سازمان استانداردهای آزمایشگاهی (CLSI) استفاده شد (۱۲). به این ترتیب با استفاده از ۲۰ نوع آنتی بیوتیک مختلف شامل: سفوتاکسیم (۳۰ µg)، سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید (۳۰+۱۰ µg)، کانامایسین (۳۰ µg)، آموکسی سیلین/کلاولانیک اسید (۲۰+۱۰ µg)، سفپیم (۳۰ µg)، تری متوپریم/سولفامتوکسازول (۱/۲۵+۲۳/۷۵ µg)، تیکارسیلین/ کلاولانیک اسید (۷۵+۱۰ µg)، پیپراسیلین (۱۰۰ µg)، پیپراسیلین/تازوباکتام (۱۰۰+۱۰ µg)، مروپنم (۱۰ µg)، سیپروفلوکساسین (۱۰ µg)، آمپی سیلین/سولباکتام (۱۰+۱۰ µg) ، لووفلوکساسین (۵ µg)، توبرامایسین (۱۰ µg)، ایمی پنم (۱۰ µg)، نتیل میسین (۳۰ µg)، داکسی سیکلین (۳۰ µg)، مینوسیکلین (۳۰ µg)، تایجی سایکلین (۱۵ µg) و کلیستین (۱۰ µg) (پادتن طب، تهران، ایران) الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی هر یک از ایزوله ها مورد بررسی قرار گرفت. سویه های *اسینتوباکتر بامانی* MDR و XDR به ترتیب با تعریف، جدایه های مقاوم نسبت به حداقل یک عامل ضد میکروبی در سه یا بیشتر از سه دسته آنتی بیوتیکی (MDR) و ایزوله های

Archive of SID

www.SID.ir

مقاوم نسبت به یک عامل (به جز دو یا کمتر) در تمامی دسته های آنتی بیوتیکی (XDR) مشخص گردیدند (۱۳). بر همین اساس سویه *اسینتوباکتر بامانی* PDR به عنوان سویه مقاوم در برابر هر هفت گروه عوامل ضد میکروبی در دسترس، شامل پنی سیلین های موثر بر *سودوموناس*، سفالوسپورین ها، کارباپنم ها، منوباکتام ها، کینولون ها، آمینوگلیکوزیدها و پلی میکسین ها به علاوه به یک تتراسیکلین (مینوسیکلین و داکسی سیکلین) و تایجی سایکلین تعریف گردید (۱۴).

ج) آنتی بیوندروگرام: به منظور طبقه بندی ایزوله های به دست آمده از نظر الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی، سویه ها با روش BAVERAGE و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS گروه بندی شدند. در این مطالعه به دلیل عدم شباهت پروفایل آنتی بیوتیکی هر یک از سویه ها با یکدیگر و نیز به دلیل به کارگیری تمامی ۲۰ آنتی بیوتیک مورد استفاده در این مطالعه، دندورگرامی بسیار پیچیده و با کارایی اندک به دست آمد (نتایج نشان داده نشده است). بنابراین، آنتی بیوندروگرامی با استفاده از موثرترین آنتی بیوتیک ها (لووفلوکساسین، توبرامایسین، نتیلوماسین، داکسی سیکلین، مینوسیکلین، تایجی سایکلین، کارباپنم ها و کلیستین) طراحی گردید که دارای کلاسترهای فرعی مناسب با قابلیت تجزیه و تحلیل مناسب بود. از آنجایی که کارباپنم ها اولین داروی انتخابی برای درمان عفونت های گرم منفی بیمارستانی می باشند و امروزه مقاومت نسبت به کارباپنم ها در حال افزایش می باشد، از این رو مطالعه ایزوله های بیمارستان نمازی شیراز از نظر حساسیت به کارباپنم های ایمی پنم و مروپنم، در تعیین میزان اثرگذاری این داروها و درمان ایزوله های *اسینتوباکتر بامانی* مورد مطالعه نقش بسیار مهمی را ایفا می نماید. به این منظور برای افزایش کارایی و ارزش تقسیم بندی آنتی بیوندروگرام، سویه ها بر اساس مقاومت یا حساسیت به کارباپنم های ایمی پنم و مروپنم، به دو دسته و به عبارتی دیگر دو دندروگرام جداگانه تقسیم گردیدند.

د) آنالیز انگشت نگاری ژنومی AFLP اصلاح شده: برای این منظور ابتدا DNA ایزوله های *اسینتوباکتر بومانی* با استفاده از کیت استخراج DNA ستونی AccuPrep (K-3032, Bioneer) با کیفت بالا تهیه گردید. سپس ۱۲۰ نانوگرم DNA کروموزومی به کمک ۲ واحد آنزیم *MboI* و ۲ واحد آنزیم *MseI* (ویوانتیس، مالزی) هضم شد. اتصال قطعات DNA هضم شده به آداپتورهای اختصاصی *MboI* و *MseI* با حضور ۱ واحد آنزیم T4 لیگاز (تاکارا، ژاپن) و ۸۰ پیکومولار از هر یک از آداپتورهای انجام گردید. پس از تکثیر اولیه بر روی ۱/۱۰ محصول اتصال آنزیمی، تکثیر انتخابی بر روی ۱/۱۰۰ محصول نهایی مرحله قبل، توسط پرایمرهای طراحی شده MboI با توالی (5′-ACGGCCCGTCGCGGATCg-3′؛ با یک باز انتخابی= g) و MseI با توالی (5′- CGACGGCCAGTCGCGTTAAg-3′ ؛ با یک باز انتخابی= g) در دمای اتصال ۵۸ درجه سانتی گراد برای ۴۵ سیکل انجام شد. قطعات تکثیری با الکتروفورز از یکدیگر جدا شده و الگوی دیجیتالی الکتروفورز با استفاده از نسخه ۳.۰۸.۳ نرم افزار SYNGENE Gel Analysis software Cambridge, UK) آنالیز و دندروگرام طراحی گردید.

ه) آنالیز آماری: در این مطالعه از نسخه نوزدهم نرم افزار آماری SPSS برای تمامی آنالیزهای آماری استفاده شد. متغیرهای دسته ها با استفاده از تست کامل فیشر آنالیز گردید. همچنین در روش UPGMA، (Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Averages) P values و سطح معناداری متغیرهای دسته بندی شده به وسیله آزمون ANOVA (یک طرفه) در میان گروه ها یا آنتی بیوتایپ های آنتی بیوندروگرام، تعیین گردید. به این ترتیب با محاسبه میانگین ارتباط بین گروه ها، معناداری اختلاف متغیرها در گروه های مشخص شده در آنتی بیوندروگرام و معناداری هر یک از کلاسترها تایید گردید.

یافته ها

الف) فراوانی اسینتوباکتر بامانی: از میان مجموع کوکوباسیل های گرم منفی و اکسیداز منفی جمع آوری شده از ۷ واحد مراقبت های ویژه در بیمارستان نمازی شیراز، ۸۵ ایزوله *اسینتوباکتر بامانی* با روش API 20NE شناسایی گردید. این

Archive of SID

www.SID.ir

سویه ها از نظر فراوانی به ترتیب در واحدهای مراقبت های ویژه داخلی ۲۷ نفر (۳۱٪)، جراحی ۲۲ نفر (۲۷٪)، مرکزی ۱۲ نفر (۱۴٪)، مغز و اعصاب ۹ نفر (۱۱٪)، پیوند ۷ نفر (۸٪)، نوزادان ۵ نفر (۶٪) و اطفال ۳ نفر (۳٪) قرار داشتند. در این بررسی سویه های *اسینتوباکتر* از ۷ نمونه بالینی مختلف، شامل عفونت های دستگاه ادراری (۴۶/۳۹٪)، عفونت های سیستم تنفسی (۲۱/۲۵٪)، جریان خون (۱۳/۱۱٪)، نمونه زخم (۷/۶٪) ، سیستم اعصاب مرکزی (۷/۶٪)، چشم (۱/۱٪) و ترشحات بینی (۱/۱٪) جداسازی گردیدند. از نظر جنسیت ۵۶ درصد (۴۸ مورد) از سویه های *اسینتوباکتر بامانی* در زنان و ۴۴ درصد (۳۷ مورد) در مردان شناسایی شد. همچنین از نظر گروه سنی کمترین و بیشترین بیماران به ترتیب دارای سنین ۱۱ روز و ۷۶ سال بودند. متوسط سن بیماران مورد بررسی در این پژوهش ۳۹ سال گزارش گردید.

ب) حساسیت آنتی بیوتیکی: تمامی سویه ها به آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم، سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید، کانامایسین و آموکسی سیلین/ کلاولانیک اسید مقاوم بودند (داده ها در شکل ۱ نشان داده نشده است). با توجه به نتایج به دست آمده از جدول ۱، آنتی بیوتیک های سفپیم، تری متوپریم/ سولفامتوکسازول، تیکارسیلین/ کلاولانیک اسید، پیپراسیلین، پیپراسیلین/ تازوباکتام با مقاومت ۹۵ و ۸۰ درصدی به عنوان آنتی بیوتیک های کم اثر در درمان سویه های *اسینتوباکتر بامانی* مورد مطالعه شناخته شدند. اما آنتی بیوتیک های کلیستین، تایجی سایکلین، مینوسیکلین و داکسی سیکلین به ترتیب با مقاومت ۱۶، ۱۸، ۲۵ و ۳۱ درصدی موثرترین داروهای درمانی بودند. همچنین نتایج نشان داد که تنوع الگوهای آنتی بیوتیکی سویه های جمع آوری شده از بیمارستان نمازی شیراز بسیار زیاد است، به طوری که هیچ کدام از پروفایل های آنتی بیوتیکی جدایه ها تشابهی با یکدیگر نداشتند. آزمون های حساسیت آنتی بیوتیکی، سه سطح مقاومت آنتی بیوتیکی را در سویه های جداسازی شده از بیمارستان نمازی شیراز را نشان داد (شکل ۱).

براساس تعاریف ارائه شده در سایر مطالعات (۱۱ و ۱۲) مشخص شد که ۵۴٪ (۴۶ مورد) از سویه های *اسینتوباکتر بامانی* جداسازی شده از بیماران بستری در واحدهای مراقبت های ویژه از نوع MDR، ۴۳٪ (۳۶ مورد) از نوع XDR و ۲٪ (۲ مورد) از نوع PDR می باشند. درصد فراوانی سویه های XDR در بخش ها و نمونه های مختلف نشان داد که بخش های داخلی (۴۸٪)، جراحی (۵۰٪)، مرکزی (۵۸٪) و نمونه های خلط (۴۳٪)، ادرار (۴۶٪) و زخم (۶۷٪) در بردارنده درصد بالایی از سویه های XDR و یا به عبارت دیگر سطح مقاومت دارویی بالا می باشند. مقایسه سویه XDR و MDR از نظر درصد مقاومت به آنتی بیوتیک های متفاوت نشان داد که مقاومت به کلیستین بر خلاف سایر آنتی بیوتیک ها در نمونه های MDR بیشتر از نمونه های XDR می باشد. در ادامه، مقایسه سویه های مقاوم و حساس نسبت به کلیستین نشان داد که درصد مقاومت در ۱۱ آنتی بیوتیک (اغلب عوامل دارویی کم اثر در مطالعه حاضر) در سویه های مقاوم به کلیستین نسبت به سویه های حساس به کلیستین کاهش یافته است (جدول ۱). همچنین مقایسه مقاومت سویه های مقاوم و حساس به کلیستین نشان داد که بیشترین کاهش در صد مقاومت به ترتیب مربوط به آنتی بیوتیک های لووفلوکساسین (۴۹٪)، پیپراسیلین/ تازوباکتام (۴۴٪)، سیپروفلوکساسین (۳۷٪)، آمپی سیلین/ سولباکتام (۳۶٪)، مروپنم (۳۲٪) و پیپراسیلین ۳۰٪ می باشد. همچنین کاهش درصد مقاومت سایر آنتی بیوتیک ها (سفپیم، تیکارسیلین/کلاولانیک اسید، تری متوپریم/ سولفامتوکسازول، توبرامایسین، ایمی پنم، نتیل میسین) بین ۵ تا ۲۰ درصد گزارش گردید. این در حالی است که بر خلاف سایر آنتی بیوتیک ها، در سویه های مقاوم به کلیستین درصد مقاومت در هر دو آنتی بیوتیک تایجی سایکلین و مینوسیکلین به میزان ۳۰٪ و داکسی سیکلین ۲۳٪ افزایش یافته بود.

ج) نتایج آنتی بیودندروگرم: در این مطالعه، ۸۵ سویه های *اسینتوباکتر بامانی* در دو دندروگرام دسته بندی شدند (شکل ۲). در آنتی بیودندروگرام ۱ (شکل ۲ الف)، ۴۳ جدایه مقاوم به ایمی پنم، در سطح تعیین ۸۴٪ تشابه برای توصیف گروه های ژنومی، به ۸ آنتی بیوگرام تایپ ۱ تا ۸ گروه بندی شدند. ۹۱

Archive of SID

www.SID.ir

درصد (۳۹ سویه، آنتی بیوتایپ های ۱ تا ۳، ۵ و ۶) از آنتی بیودندروگرام ۱ متعلق به سویه هایی بود که به هر دو آنتی بیوتیک ایمی پنم و مروپنم مقاومت نشان دادند. در نهایت ۴ سویه باقی مانده این آنتی بیودندروگرام (۹٪)، در آنتی بیوتایپ های ۴، ۷ و ۸، به عنوان سویه های مقاوم به ایمی پنم و حساس به مروپنم شناخته شدند. ارزیابی سویه های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربا‌پنم های مورد مطالعه (آنتی بیوتایپ های ۱– ۳ و ۵ و۶)، به منظور انتخاب درمان مناسب، نشان داد که آنتی بیوتیک های کلیستین (۱۳٪)، تایجی سایکلین (۱۸٪)، مینوسیکلین (۲۳٪) و داکسی سیکلین (۲۸٪) به ترتیب موثرترین عوامل آنتی بیوتیکی برای درمان سویه های مقاوم به ایمی پنم و مروپنم می باشند. همچنین آنتی بیوتیک های نتیل میسین و توبرامایسین به ترتیب با در صد مقاومت ۳۶٪ و ۴۴٪ در سویه های مقاوم به هر دو کاربا‌پنم های مطالعه شده به عنوان داروهایی با اثر بالای ۵۰٪ پیشنهاد گردیدند. در این مطالعه اثر بخشی ۴ آنتی بیوتیک کلیستین، تایجی سایکلین، مینوسیکلین و داکسی سیکلین آنچنان بالا بود که آنتی بیوتایپ های ۵ و ۶ با ۳۴ سویه مقاوم به ایمی پنم و مروپنم، به طور هم زمان حداقل ۸۵٪ نسبت به این ۴ آنتی بیوتیک حساسیت نشان دادند. این در حالی است که توبرامایسین نیز با حساسیت ۱۰۰٪ بر روی تمامی سویه های بیوتایپ ۶ موثر بود.

آنتی بیوتایپ های ۱ و ۲، اگرچه تنها دارای ۵ سویه بودند، به دلیل مقاومت به اکثر عوامل دارویی مورد بررسی به عنوان مقاوم ترین بیوتیپ های مطالعه حاضر معرفی گردیدند. سویه آنتی بیوتایپ ۲، از نوع PDR می باشد به طوری که ایزوله های این بیوتایپ (به جز ایزوله شماره ۵۱ که به تایجی سایکلین حساس می باشد)، به تمامی عوامل دارویی مورد مطالعه مقاوم هستند. این در حالی است که در آنتی بیوتایپ ۱، نمونه ها علاوه بر کلیستین به ۱ یا ۲ آنتی بیوتیک دیگر (لووفلوکساسین، توبرامایسین و مینوسیکلین) نیز حساس بودند.

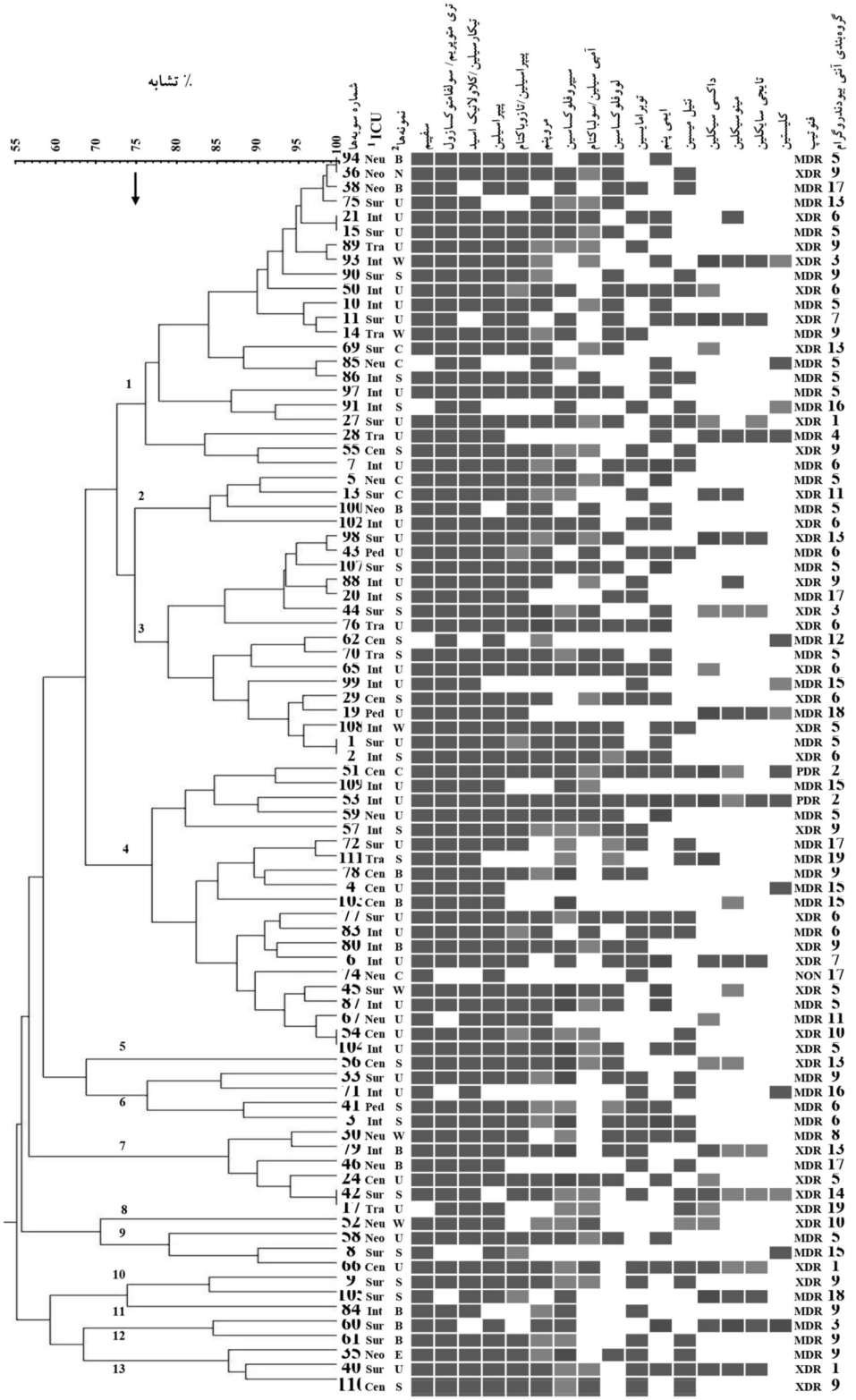
همان طور که شکل ۲ ب، نشان داده شده است، آنتی بیودندروگرام ۲، شامل ۴۲ سویه *اسینتوباکتر بامانی* حساس به ایمی پنم در ۱۱ آنتی بیوتایپ مختلف می باشد. ۶۲ درصد (۲۶ مورد) از سویه های این آنتی بیودندروگرام به مروپنم مقاوم (آنتی بیوتایپ های ۹ تا ۱۴) و ۱۶ سویه دیگر به هر دو آنتی بیوتیک ایمی پنم و مروپنم حساس می باشند (آنتی بیوتایپ های ۱۵ تا ۱۹). بر اساس نتایج حساسیت آنتی بیوتیکی به دست آمده در این پژوهش، ۷۱٪ از حساس ترین آنتی بیوتایپ ها (فنوتایپ های ۱۵ و ۱۶)، به آنتی بیوتیک کلیستین مقاوم

جدول ۱: نتایج آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های *اسینتوباکتر بامانی* جداسازی شده از بیمارستان نمازی شیراز

آنتی بیوتیک	مقاومت‌های آنتی بیوتیکی تعداد (٪)															
	سفیم	تری متوپریم/ سولفامتاکسازول	تیکارسیلین/کلاولانیک اسید	پیپراسیلین	پیپراسیلین/تازوباکتام	مروپنم	سیپروفلوکساسین	آمپی سیلین/سولباکتام	لووفلوکساسین	توبرامایسین	ایمی پنم	نتیل میسین	داکسی سیکلین	مینوسیکلین	تایجی سایکلین	کلیستین
کل (۸۵)	(۹۵)۸۱	(۹۴)۸۰	(۹۳)۷۹	(۸۹)۷۶	(۸۰)۶۸	(۷۶)۶۵	(۷۴)۶۳	(۵۹)۵۰	(۴۷)۵۵	(۵۱)۴۳	(۵۱)۴۳	(۴۰)۳۴	(۳۱)۲۶	(۲۵)۲۱	(۱۸)۱۵	(۱۶)۱۴
(۴۵) MDR	(۹۳)۴۳	(۹۱)۴۲	(۹۱)۴۲	(۸۳)۳۸	(۷۰)۳۲	(۶۵)۳۰	(۶۳)۲۹	(۳۷)۱۷	(۵۴)۲۵	(۴۱)۱۹	(۴۸)۲۲	(۳۵)۱۶	(۱۳)۶	(۱۱)۵	(۹)۴	(۲۲)۱۰
(۳۷) XDR	(۹۷)۳۵	(۱۰۰)۳۶	(۹۷)۳۵	(۹۷)۳۵	(۹۴)۳۴	(۹۲)۳۳	(۸۹)۳۲	(۸۶)۳۱	(۵۵)۲۰	(۵۸)۲۱	(۵۳)۱۹	(۴۴)۱۶	(۵۰)۱۸	(۳۹)۱۴	(۲۸)۱۰	(۲)۶
کلیستین																
سویه های حساس (۷۱)	(۹۹)۷۰	(۹۶)۶۸	(۹۶)۶۸	(۹۴)۶۷	(۸۷)۶۲	(۸۲)۵۸	(۸۰)۵۷	(۶۵)۴۶	(۶۳)۴۵	(۵۲)۳۷	(۵۲)۳۷	(۴۱)۲۹	(۲۷)۱۹	(۲۰)۱۴	(۱۳)۹	–
سویه های مقاوم (۱۴)	(۷۹)۱۱	(۸۶)۱۲	(۷۹)۱۱	(۶۴)۹	(۴۳)۶	(۵۰)۷	(۴۳)۶	(۲۹)۴	(۱۴)۲	(۴۳)۶	(۴۳)۶	(۳۶)۵	(۵۰)۷	(۵۰)۷	(۴۳)۶	–
درصد اختلاف	۲۰	۱۰	۲۰	۳۰	۴۴	۳۲	۳۷	۳۶	۴۹	۹	۹	۵	-۲۳	-۳۰	-۳۰	–

Archive of SID

www.SID.ir



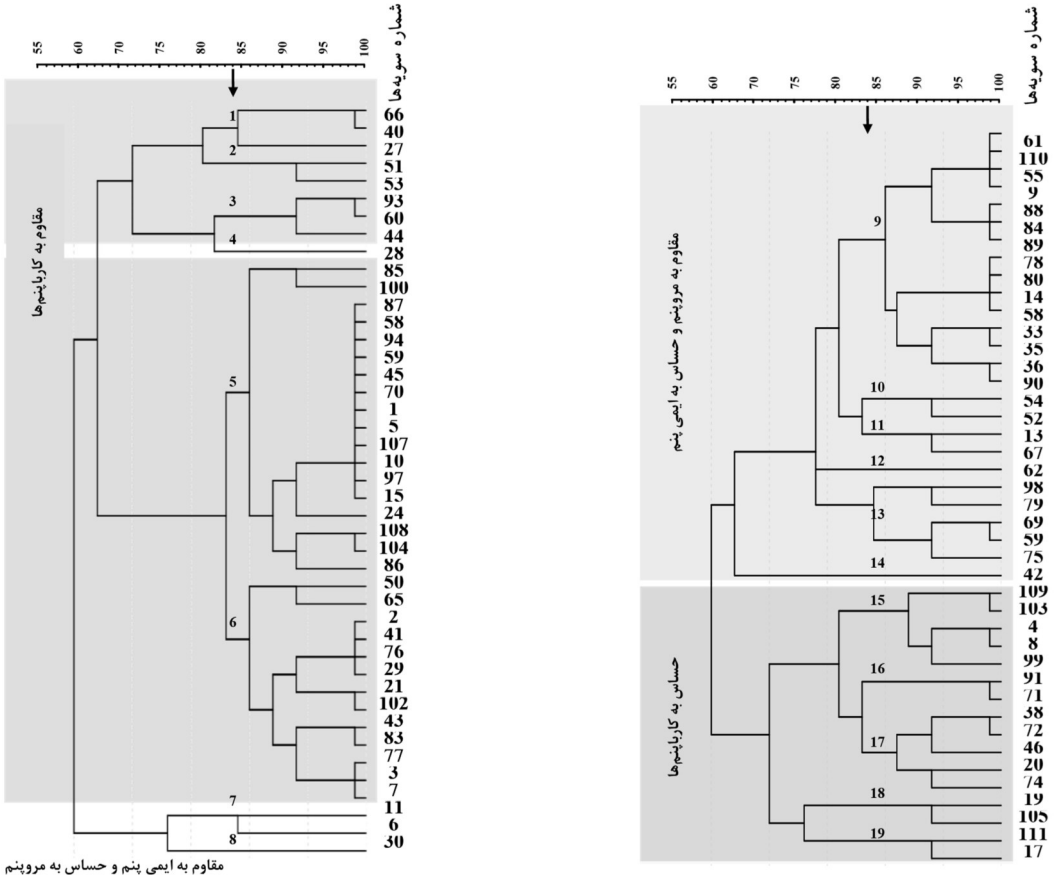
شکل ۱: آنالیز کلاسترهای AFLP ۸۵ ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* به دست آمده در این مطالعه، اطلاعات بالینی بیماران، الگوی حساسیت های دارویی ، تعیین سه سطح مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها (فنوتیپ) و نتایج آنتی بیوگرام و مقایسه آن با دندروگرام AFLP

[1] ICU : Intensive Care Unit. Int: داخلی. Sur: جراحی. Cen: مرکزی. Neo: نوزادان. Neu: مغز و اعصاب. Tra: پیوند. Ped: اطفال.

[2] W: زخم. B:خون. S: خلط. U: ادرار. C: مای مغزی نخاعی. E:ترشحات چشم. N:ترشحات بینی.

نمونه حساس ، نمونه نیمه حساس ، نمون مقاوم .

www.SID.ir



شکل ۲: آنتی بیودندروگرام به دست آمده از روش UPGMA، که اختلاف فاصله بین گروها یا فنوتیپ ها را ترسیم نموده است. سمت چپ: ۴۳ سویه (شامل ۳۹ سویه مقاوم به کاربانیم ها (رنگی) و ۴ سویه مقاوم به ایمی پنم (بدون رنگ)). سمت راست: ۴۲ سویه (شامل ۲۶ سویه مقاوم به مروپنم (به رنگ روشن) و ۱۶ سویه حساس به هر دو کاربانیم مروپنم و ایمی پنم (به رنگ تیره)). الف) آنتی بیودندروگرام سویه های مقاوم به ایمی پنم. ب) آنتی بیودندروگرام سویه های حساس به ایمی پنم.

Archive

دارویی) حساس می باشند. به طوری که این سویه ها به طور هم زمان به هر سه آنتی بیوتیک ایمی پنم، مروپنم و لووفلوکساسین ۱۰۰٪ حساس می باشند.

د) طبقه بندی های ژنوتیپی AFLP: ایزوله ها در سطح تعیین شباهت ۷۵ درصد در هر گروه، به ۱۳ خوشه گسسته دسته بندی شدند. ژنوتیپ های AFLP به طور عمده متعلق به خوشه های با فراوانی ۱ (۲۲ سویه، ۲۶٪)، ۳ (۱۶ سویه، ۱۹٪) و ۴ (۲۰ سویه، ۲۳٪) بودند که این یافته ها شیوع های بالای بیماری را در بیمارستان نمازی شیراز نشان می دهند.

داده های AFLP، ۱۰ سویه را به صورت جفت، با شباهت ۱۰۰٪ ژنتیکی (نمونه های شماره ۴۲، ۱۷ – ۵۴، ۱۰۴– ۱، ۲ – ۲۱، ۱۵ – ۹۴، ۳۶) مشخص نمود. این سویه ها با وجود شباهت ۱۰۰٪ ژنتیکی، الگوهای آنتی بیوتیکی متفاوتی را داشتند. بنابراین این نتایج بیش از پیش تنوع الگوهای آنتی بیوتیکی را در جدایه های جمع آوری شده از بیمارستان نمازی شیراز را نشان می دهد. پس از ارزیابی شکل دندروگرام AFLP مشاهده گردید که نمونه های شایع در خوشه های اصلی ۱، ۳ و ۴ به ترتیب شامل ادرار (۱۰، ۴۵٪)، ادرار و خلط (۸، ۳۶٪ و ۶، ۲۷٪) و ادرار (۱۲، ۶۰ درصد) می باشند. به همین ترتیب، کلاسترهای یاد شده در بخش های مختلف پراکنده می باشند. به طوری که اغلب خوشه ۱ در بخش های داخلی و جراحی (۸، ۳۶٪ و ۶، ۲۷٪)، خوشه ۳ در همان بخش ها

www.SID.ir

بوده اما به اغلب آنتی بیوتیک های دیگر (۱۴ تا ۱۶ عامل (۶، ۳۷٪، ۴، ۲۵٪) و خوشه ۴ در بخش های داخلی و مرکزی (۸، ۴۰٪، ۵، ۲۵٪) وجود داشتند. همچنین با وجود خویشاوندی بسیار نزدیک و مشابهت ژنتیکی ۱۰۰٪ در جفت سویه ها (یاد شده در مطالب قبل)، این سویه ها مربوط به بخش های مختلفی بودند.

بحث

در طول دهه گذشته، مطالعات گسترده ای در زمینه ارزیابی الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی *اسینتوباکتر* در ایران انجام شده است. با مقایسه نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر و سایر بررسی های انجام شده در سال های ۲۰۰۸ تا ۲۰۱۱ در تهران (۱۸–۱۵) و نیز ۲۰۱۲–۲۰۱۱ در تبریز (۱۹ و ۲۰)، روال رو به رشد مقاومت های دارویی کاربانپم ها در سویه های *اسینتوباکتر بامانی* مشاهده می گردد. هرچند مقاومت های دارویی در سال های اخیر در ایران مشابهت هایی با مطالعه حاضر دارند اما لازم است به افزایش مقاومت به کلیستین در نمونه های این پژوهش (۱۵٪) نسبت به نمونه های تهران و تبریز (۵٪ و ۰٪) نیز اشاره نمود. نتایج مطالعه الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی در بیمارستان نمازی شیراز نشان داد که با افزایش مقاومت در سویه های XDR نسبت به MDR میزان مقاومت به کلیستین بر خلاف سایر آنتی بیوتیک ها، کاهش می یابد. نتایج مطالعه سویه های مقاوم به کلیستین نشان داد که مقاومت در محدوده وسیعی از آنتی بیوتیک ها شامل سفالوسپورین ها، تری متوپریم، بتا لاکتام ها/ مهار کننده های بتالاکتاماز، کاربانپم ها، فلوروکینولون ها و آمینوگلکوزیدها در سویه های مقاوم به کلیستین نسبت به سویه های حساس به کلیستین کاهش یافته است. اما برخلاف دیگر آنتی بیوتیک ها، درصد مقاومت در تتراساکلین ها و تایجی سایکلین (هر دو تایجی سایکلین و مینوسیکلین ۳۰٪ و داکسی سیکلین ۲۳٪) در سویه های مقاوم به کلیستین افزایش داشته است. نتایج به دست آمده توسط لی (Li) و همکاران در سال ۲۰۰۷ تایید می کند که در سویه های *اسینتوباکتر بامانی* مقاوم به کلیستین، تکثیر مکرر از نسلی به نسل دیگر موجب ایجاد دیواره سلولی با لیپوپلی ساکارید ناقص و در نتیجه افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی نسبت به محدوده خاصی از آنتی بیوتیک ها می گردد (۲۱).

همچنین یافته های محققان یاد شده در رابطه با عدم تغییر مقاومت تتراساکلین ها در سویه های مقاوم به کلیستین برخلاف دیگر آنتی بیوتیک ها، که در مطالعه حاضر به صورت افزایش در صد مقاومت در تتراساکلین ها و تایجی سایکلین گزارش شده است، پیشنهاد می نماید که وجود یک مکانیسم خاص در مقاومت تتراساکلین ها در *اسینتوباکتر بامانی*، علاوه بر مکانیسم عدم دیواره سلولی، موجب افزایش مقاومت به تتراساکلین ها شده است. با در نظر گرفتن وجه اشتراک اثر سه آنتی بیوتیک (مینوسیکلین، داکسی سیکلین و تایجی سایکلین) در سطح 30 S ریبوزومی، به نظر می رسد که مکانیسم مقاومت خاصی با تغییرات دیواره سلولی ناشی از فعالیت مقاومتی نسبت به کلیستین، فیدبک خاص بر تنظیم مکانیسم مقاومت در سطح 30 S ریبوزومی ایجاد می کند. چرا که در تمامی مقاومت های دارویی علاوه بر مقاومت در سطح دیواره سلولی، در سطوح دیگر نیز برای انواع آنتی بیوتیک ها مکانیسم مقاومتی وجود دارد. اما این مکانیسم تنها ویژه تتراساکلین ها و تایجی سیکلین می باشد که با تغییرات جدید اثر عکس دارد. بنابراین تغییر هدف دار، وجود یک فیدبک خاص را نشان می دهد که سبب افزایش مقاومت در این سطح می گردد. به دلیل گسترش سریع مقاومت به آنتی بیوتیک های متداول در اغلب سویه های مقاوم *اسینتوباکتر بامانی* در سراسر جهان، توصیه های درمانی متعدی در جهت درمان و ریشه کنی عفونت های مقاوم به درمان بیان شده است (۲۲). به طوری که مطالعات قبلی آزمایشگاهی به طور سازگار با نتایج حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های *اسینتوباکتر بامانی* XDR جداسازی شده در این مطالعه، موثرترین آنتی بیوتیک ها را بر علیه سویه های XDR مینوسیکلین، تایجی سایکلین و کلیستین (به ترتیب با درصد حساسیت ۶۱٪، ۷۲٪ و ۹۴٪) توصیه نموده اند (۲۵–۲۳).

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین، به طور جالب توجهی مشاهده گردید که همانند مطالعه توتونکو (Tutuncu) و همکاران (۲۶) موثرترین روش درمان عفونت منتژیت، استفاده از تایجی سایکلین به جای کلیستین می باشد. خاصیت نفروتوکسیسیتی کمتر تایجی سایکلین نسبت به کلیستین (۲۷)، قدرت نفوذپذیری بالای آن در مایع مغزی نخاعی (CSF) (۲۸) و همچنین اثر ۱۰۰٪ تایجی سایکلین و سپس نتیلومایسین (۸۳٪ حساسیت در نمونه های CSF) موجب شده است که این آنتی بیوتیک ها از موثرترین عوامل درمانی به شمار آیند. پس از کلیستین و تایجی سایکلین، عوامل دارویی موثر دیگر در درمان سویه های حساس تر *اسینتوباکتر بامانی*، به ترتیب داکسی سیکلین، نتیلومایسین و توبرامایسین پیشنهاد می گردد. همچنین در سویه های مقاوم به کاربانم ها، علاوه بر ۳ آنتی بیوتیک معرفی شده برای درمان سویه های XDR (مینوسیکلین، تایجی سایکلین و کلیستین) که حساسیت ۷۷٪، ۸۲٪ و ۸۷٪ را دارا می باشند می توان به توبرامایسین (۵۴٪)، نتیلومایسین (۶۴٪) و داکسی سیکلین (۷۳٪) نیز اشاره نمود. از این میان اگرچه توبرامایسین به عنوان داروی موثر در درمان عفونت های پوستی و دستگاه ادراری معرفی شده است اما به دلیل خاصیت سمی همانند کلیستین توصیه نمی گردد (۲۹).

در پژوهش حاضر برای اولین بار در ایران به منظور شناسایی *اسینتوباکتر بومانی* در سطح سویه و نیز بررسی ساختار جمعیت این گونه با صلاحیت بالا، از روش اصلاح شده AFLP استفاده شد. زیرا این روش قابلیت تکثیر و توانایی کافی در افتراق ژنوم گونه های باکتریایی را داشته و به طور متمایزی نسبت به روش های ریبوتایپیگ و آنالیز RFLP، کل ژنوم را بررسی می نماید. همچنین در مقایسه با روش PFGE (Pulsed-Field Gel Electrophoresis) نیز با سرعت بیشتری به دست می آید (۱۰، ۱۱ و ۳۰). در این مطالعه با آنالیز الگوی AFLP، ۳ ژنوتایپ اصلی ۱، ۳ و ۴ که در ارتباط با شیوع بالای بیماری در بیمارستان نمازی شیراز بودند شناسایی گردید. در نهایت اختلاف بین نتایج دندروگرام و آنتی بیودندروگرام و به عبارت دیگر عدم شباهت فنوتیپی در ژنوتیپ ها (گروه هایی با شباهت بسیار ژنتیکی نسبت به یکدیگر)، به ویژه در سویه های جفت با شباهت ژنتیکی ۱۰۰٪، نشان داد که سرعت انتقال و رشد مقاومت در بین جدایه های بیمارستان نمازی شیراز بالا می باشد. این امر با حضور عمده سویه های در حال گسترش XDR و PDR تایید می گردد. این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه نمک (Nemec) و همکاران در سال ۲۰۰۸ هم خوانی دارد (۳۱). از سوی دیگر مطالعه حاضر با توجه به وجود کلاسترهای کوچک و پراکنده در الگوی دندروگرام AFLP (مانند کلاسترهای ۵-۱۳ با شباهت ژنومی بسیار) و همچنین کاهش مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های مقاوم به کلیستین به علت تکثیر مکرر این سویه ها در بیمارستان نمازی شیراز، انتقال مقطعی (cross – transmission) سویه های *اسینتوباکتر بامانی* را پیشنهاد می نماید. در مجموع، سرعت بالای انتقال مقاومت و انتقال مقطعی بسیار در میان بخش های مختلف مراقبت های ویژه در بیمارستان نمازی شیراز دلالت بر وجود مخزن های متفاوت از نظر مکانی و نمونه های عامل عفونی می باشد. در این پژوهش بررسی اپیدمیولوژیکی ایزوله های *اسینتوباکتر بامانی* نشان داد که بیشترین فراوانی سویه های XDR مربوط به نمونه های ادرار، زخم و خلط و بخش های جراحی و مرکزی می باشد. مطالعات گذشته پیشنهاد نموده است که مقاوم ترین سویه ها به دلیل تسهیل بقا در محیط، از فراوانی بیشتری نیز برخوردار می باشند (۳۲). در این رابطه، هرچند نمونه های ادرار و خلط با فرضیه گسترش سویه های مقاوم مطابقت دارند و به ترتیب متعلق به ۴۶٪ و ۲۵٪ کل نمونه های مطالعه حاضر می باشند، اما ۶۷٪ سویه های موجود در نمونه های زخم XDR بودند و فراوانی اندکی (۷٪ کل نمونه های مطالعه شده) را در واحدهای مختلف مراقبت های ویژه نشان می دهند. بنابراین ممکن است علت پیدایش سویه های XDR فشار انتخاب دارویی، استفاده از رژیم دارویی وسیع الطیف و یا حذف سویه های حساس توسط انتخاب آنتی بیوتیکی باشد (۳۳). در نتیجه با توجه به این موضوع که امکان استقرار *اسینتوباکتر بامانی* در عفونت

Archive of SID

www.SID.ir

های پوستی و تنفسی نسبت به سایر عفونت های بیشتر است (۳۴ و ۳۵)، می توان اظهار نظر نمود که احتمالا در مطالعه حاضر عفونت های متعلق به پوست، دستگاه تنفسی و دستگاه ادراری به عنوان نمونه های عامل عفونی مطرح می باشند. همچنین دلیل احتمالی برای گسترش کلاسترهای ۱، ۳ و ۴ که بیشتر از نمونه های ادرار و خلط تشکیل شده اند، نسبت به کلاسترهای کوچک مانند ۸-۱۳ که نمونه های آنها بیشتر در خون یافت شده اند، می تواند نشان دهنده دخالت نمونه های یاد شده و مقاومت بالای این سویه ها نسبت به سایر نمونه ها باشد. چرا که ممکن است نمونه های ادرار و خلط به دلیل انتشار راحت تر نسبت به سایر نمونه ها و همچنین مقاومت بسیار بالای جدایه های آنها بر علیه آنتی بیوتیک ها بتوانند با ایجاد آلودگی های محیطی ماندگار سبب انتشار و ایجاد شیوع های گسترده (کلاسترهای ۱ و ۳ و ۴) گردند. در الگوی دندروگرام AFLP (شکل ۱) نتایج قابل توجهی از بررسی دقیق انتقال مقطعی سویه های *اسینتوباکتر بامانی* دربین واحدهای مختلف مراقبت های ویژه بیمارستان نمازی شیراز به دست آمد. در این بررسی مشاهده شد که دو بخش داخلی و جراحی به واسطه انتقال مقطعی سویه های *اسینتوباکتر بامانی* به دیگر بخش های مراقبت های ویژه بیمارستان مرتبط شده اند. اما عدم وجود یک یا چند انتقال عمده در میان سایر بخش های دیگر بیمارستان، این دو بخش را نسبت به سایر بخش ها متمایز کرده است. با توجه به این نتایج چنین به نظر می رسد که دو بخش داخلی و جراحی، بخش های اصلی در انتقال عفونت های *اسینتوباکتر بامانی* باشند. بنابراین می توان پیشنهاد نمود که بخش های مراقبت های ویژه جراحی و داخلی به دلیل حضور در اغلب کلاسترها به ویژه کلاسترهای وسیع (کلاسترهای ۱ و ۳ و ۴) و درصد بالای سویه ها به ویژه سویه های XDR (مقاومت بسیار در نمونه های جدا شده از این بخش ها) و نیز مشاهده انتقال عمده سویه ها بین این دو بخش، مخزن های آلودگی برای *اسینتوباکتر بامانی* در این بیمارستان باشند.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان می دهد که وجود مخازن و نمونه های عامل عفونی، تکثیر بالای سویه های *اسینتوباکتر بومانی* و انتقال مقطعی سویه ها در میان بخش های نمازی شیراز، موجب افزایش مقاومت دارویی و بروز شیوع های گسترده در بیمارستان شده است. این امر ضرورت راهکارهای مناسب برای انجام روش های بهداشتی جلوگیری کننده از پیدایش و سرایت این عفونت ها را مشخص نماید. همچنین نتایج حاصل از بررسی سویه های مقاوم و حساس به کلیستین حضور مکانیسم قدرتمند در سطح ریبوزومی بر علیه آنتی بیوتیک های تتراساکلین ها و تایجی سیکلین و نیز تاثیر مقاومت به کلیستین بر کاهش مقاومت به اکثر آنتی بیوتیک ها را تائید می نماید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از خانم زهرا هاشمی زاده، آقای محمد طاهری، پرسنل محترم بخش میکروب شناسی بیمارستان نمازی شیراز و همچنین خانم آزاده علایی و آقای امیر بختیاری به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii:* epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. Clin Infect Dis. 2008; 46(8): 1254-1263.

2. Jung JY, Park MS, Kim SE, Park BH, Son JY, Kim EY, Lim JE, Lee SK, Lee SH, Lee KJ. Risk factors for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia in patients with colonization in the intensive care unit. BMC Infect Dis. 2010; 10: 228.

Archive of SID

www.SID.ir

3. Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IS, Benade S. The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter spp.*: an overview. J Microbes Environ. 2011; 26(2): 101-112.

4. Irfan S, Idrees F, Mehraj V, Habib F, Adil S, Hasan R. Emergence of Carbapenem resistant Gram negative and vancomycin resistant Gram positive organisms in bacteremic isolates of febrile neutropenic patients: a descriptive study. BMC Infect Dis. 2008; 8: 80.

5. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Infect Dis. 2006; 43(Suppl 2): S49-S56.

6. Jean SS, Hsueh PR, Lee WS, Chang HT, Chou MY, Chen IS, Wang JH, Lin CF, Shyr JM, Ko WC. Nationwide surveillance of antimicrobial resistance among non-fermentative Gram-negative bacteria in Intensive Care Units in Taiwan: SMART programme data 2005. Int Antimicrob Agents. 2009; 33(3): 266-2671.

7. Sopirala MM, Mangino JE, Gebreyes WA, Biller B, Bannerman T, Balada-Llasat J-M, Pancholi P. Synergy testing by Etest, microdilution checkerboard, and time-kill methods for pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54(11): 4678-4683.

8. Livermore D. The impact of carbapenemases on antimicrobial development and therapy. Curr Opin Investig Drugs. 2002; 3(2): 218- 224.

9. Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii:* the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. J Infect Dev Ctries. 2009; 3(5): 335-341.

10. Janssen P, Coopman R, Huys G, Swings J, Bleeker M, Vos P, Zabeau M, Kersters K. Evaluation of the DNA fingerprinting method AFLP as a new tool in bacterial taxonomy. J Microbiol. 1996; 142(7): 1881-1893.

11. Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van De Lee T, Hornes M, Friters A, Pot J, Paleman J, Kuiper M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. J Nucleic Acids Research. 1995; 23 (21): 4407-4414.

12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-first Informational Supplement M100-S21. Wayne, PA, USA: CLSI. 2011.

13. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey R, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson□Liljequist B. Multidrug□resistant, extensively drug□resistant and pandrug□resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. J Clin Microbiol Infection. 2012; 18(3): 268-281.

14. Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol. 2006; 55(12): 1619-1629.

15. Feizabadi M, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, Rasoolinejad M, Sadeghifard N, Aligholi M, Soroush S, Mohammadi-Yegane S. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of

Archive of SID

www.SID.ir

bla$_{OXA}$ genes among *Acinetobacter spp*. isolated from patients at Tehran hospitals. Jpn J Infect Dis. 2008; 61(4): 274-278.

16. Asadollahi K, Alizadeh E, Akbari M, Taherikalani M, Niakan M, Maleki A, Asadollahi P, Soroush S, Feizabadi M-M, Emaneini M. The role of blaoxa-like carbapenemase and their insertion sequences (ISS) in the induction of resistance against carbapenem antibiotics among *Acinetobacter baumannii* isolates in Tehran hospitals. Roum Arch Microbiol Immunol. 2011; 51: 153.

17. Akbari M, Niakan M, Taherikalani M, Feizabadi M-M, Azadi N-A, Soroush S, Emaneini M, Abdolkarimi A, Maleki A, Hematian A. Rapid identification of Iranian *Acinetobacter baumannii* strains by single PCR assay using *bla* $_{oxa\text{-}51\text{-}like}$ carbapenemase and evaluation of the antimicrobial resistance profiles of the isolates. Acta Microbiol Immunol Hung. 2010; 57(2): 87-94.

18. Asadollahi P, Akbari M, Soroush S, Taherikalani M, Asadollahi K, Sayehmiri K, Maleki A, Maleki M-H, Karimi P, Emaneini M. Antimicrobial resistance patterns and their encoding genes among *Acinetobacter baumannii* strains isolated from burned patients. Burns. 2012. 38 (8): 1198-1203.

19. Peymani A, Nahaei M-R, Farajnia S, Hasani A, Mirsalehian A, Sohrabi N, Abbasi L. High prevalence of metallo-b-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a Teaching Hospital in Tabriz, Iran. Jpn J Infect Dis. 2011; 64: 69-71.

20. Sohrabi N, Farajnia S, Akhi MT, Nahaei MR, Naghili B, Peymani A, Amiri Z, Ahangarzadeh-Rezaee M, Saeedi N. Prevalence of OXA-type β-lactamases among *Acinetobacter baumannii* isolates from Northwest of Iran. Microbial Drug Resistance. 2012; 18(4): 385-389.

21. Li J, Nation RL, Owen RJ, Wong S, Spelman D, Franklin C. Antibiograms of multidrug-resistant clinical *Acinetobacter baumannii*: promising therapeutic options for treatment of infection with colistin-resistant strains. Clin Infect Dis. 2007; 45(5): 594-598.

22. Paterson DL. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. Clin Infect Dis. 2006; 43(Suppl 2): S43-S8.

23. Neonakis IK, Spandidos DA, Petinaki E. Confronting multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a review. Int J Antimicrob Agents. 2011; 37(2): 102-109.

24. Liang W, Liu Xf, Huang J, Zhu DM, Li J, Zhang J. Activities of colistin-and minocycline-based combinations against extensive drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from intensive care unit patients. BMC Infect Dis. 2011; 11:109.

25. Kempf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. Int J Antimicrob Agents. 2012; 39(2):105-114.

26. Tutuncu EE, Kuscu F, Gurbuz Y, Ozturk B, Haykir A, Sencan I. Tigecycline use in two cases with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis. Int J Infect Dis. 2010; 14 (Suppl 3): e224-6.

27. Falagas ME, Rizos M, Bliziotis IA, Rellos K, Kasiakou SK, Michalopoulos A. Toxicity after

Archive of SID

www.SID.ir

prolonged (more than four weeks) administration of intravenous colistin. BMC Infect Dis. 2005; 5: 1.

28. Lengerke C, Haap M, Mayer F, Kanz L, Kinzig M, Schumacher U, Sörgel F, Riessen R. Low tigecycline concentrations in the cerebrospinal fluid of a neutropenic patient with inflamed meninges. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55(1): 449-450.

29. Gounden R, Bamford C, van Zyl-Smit R, Cohen K, Maartens G. Safety and effectiveness of colistin compared with tobramycin for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infections. BMC Infect Dis. 2009; 9: 26.

30. Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. J Clin Microbiol. 1999; 37(6): 1661-1669.

31. Nemec A, Křížová L, Maixnerová M, Diancourt L, van der Reijden TJ, Brisse S, van den Broek P, Dijkshoorn L. Emergence of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* in the Czech Republic is associated with the spread of multidrug-resistant strains of European clone II. J Antimicrob Chemother. 2008; 62(3): 484-489.

32. Fournier P-E, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, Richet H, Robert C, Mangenot S, Abergel C. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. PLOS Genet. 2006; 2(1):e7.

33. Gould I. A review of the role of antibiotic policies in the control of antibiotic resistance. J Antimicrob Chemother. 1999; 43(4): 459-465.

34. Bergogne-Berezin E, Towner K. *Acinetobacter spp*. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol. 1996; 9(2): 148-165.

35. Fournier PE, Richet H, Weinstein RA. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin Infect Dis. 2006; 42(5): 692-699.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Microbial World
Volume 6, No. 2, June 2013

Original Article

Molecular epidemiology & antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* isolated from Namazi Hospital, in Shiraz by modified AFLP analysis

Najmeh Alaee[1], Abbas Bahador[2], Nasser Harzandi[3]

[1]M.Sc., Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Karaj branch, Karaj, Iran.

[2]Assistant professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[3]Assistant professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Karaj branch, Karaj, Iran.

Archive of SID

Abstract

Background and Objectives: Due to rapid resistance of *Acinetobacter baumannii* to broad-spectrum antibiotics and to cause nosocomial infections with high mortality rates, this bacterium has associated with many therapeutic problems. This study aimed to investigate epidemiologic strains pf *Acinetobacter* isolates in Sahid Namazi hospital, Shiraz- Iran, based on AFLP method and to determine their antibiotic resistance levels in order to design surveillance program and effective treatment.

Materials and Methods: This descriptive study were performed on the *Acinetobacter baumannii* strains isolated from seven different intensive Care Units of Sahid Namazi hospital. All isolates were identified with the API20NE kits. Drug resistances of the strains were determined based on broth microdilution methods. For purpose of the phenotypic typing by obtained results, the antibiodendrogram was designed with SPSS statistical software. Next, AFLP analysis was performed with DNA digestion by *MboI* and *MseI* restriction enzymes, ligation of synthetic adapters, Pre-amplification and sensitive amplification by specific primers.

Results: In present research, 54% (46 cases) of *Acinetobacter baumannii* strains were MDR, while 43% (36 cases) belonged to XDR and only 2% (2 cases) was identified as PDR. The antibiotic susceptibility pattern show prominent presence of imipenem resistance (51%) and meropenem resistance (76%) strains. In addition, the AFLP results revealed that three main clusters (1, 3, and 4) have been associated with several outbreaks of nosocomial infections.

Conclusion: Based on the results, rapid growth of *Acinetobacter baumannii* and their cross-transmission among different wards of Sahid Namazi hospital have led to increase of antibiotic resistance rate and their prevalence in the hospital. Therefore, results of this study emphasizes surveillance programs for infection control and to eradication therapy.

Keywords: *Acinetobacter baumannii,* AFLP, Antibiodendrogram.

Correspondance to: Najmeh Alaee

Tel: +989355895514

E-mail: alaee.na@gmail.com

Journal of Microbial World 2013, 6(2): 91-104.

www.SID.ir