فراوانی بتالاکتامازهای وسیع الطیف در اسینتوباکتر بومانئی با استفاده از روشهای فنوتیپی و ژنوتیپی

صفر فرج نیا [1]، نصراله سهرابی [2*] ، محمد تقی اخی [3]، محمد رضا نهائی [4]، امیر پیمانی [5]، زهره امیری [6]

1. دکترای بیوتکنولوژی، دانشیار مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
2. دکترای باکتری شناسی، استادیار گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
3.دکترای میکروب شناسی، دانشیار گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
4.دکترای میکروب شناسی، استاد گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز
5.دکترای باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
6.دانشجوی دکترای بیوتکنولوژی پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس تهران و گروه زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه رازی کرمانشاه

*** نشانی برای مکاتبه:** کرمانشاه، بلوار دولت آباد، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی، na.sohrabi@yahoo.com
دریافت مقاله: بهمن نود و یک پذیرش برای چاپ: فروردین نود و دو

چکیده

سابقه و هدف : *مهم ترین عامل مقاومت به آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام در اسینتوباکتر بومانئی، تولید آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف(ESBL) است و PER-1 یکی از شایع ترین این آنزیم ها است. در این مطالعه ، فراوانی این آنزیم با استفاده از روش های فنوتیپی و ژنوتیپی بررسی شد.*

روش کار: *تعداد 100 ایزوله اسینتوباکتر بومانئی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز ، با استفاده از روش های میکروب شناسی و بررسی وجود ژن OXA-51 شناسائی شدند. وجود آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف(ESBL) ، با استفاده از تست غربالی و تستهای تاییدی Double Disk Synergy Test (DDST) و Combined Disk Test (CDT) بررسی شدند. وجود ژن PER-1 با استفاده از آزمون PCR بررسی شد. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 16 و آزمون مربع کای تجزیه و تحلیل شد.*

یافته ها: *همه 100 ایزوله اسینتوباکتر بومانئی دارای ژن OXA-51 بودند و تشخیص در سطح گونه تایید شد. با استفاده از تست DDST (53%) ، تست CDT (64%) و با استفاده از هر دو تست 70% ایزوله ها از نظر تولید ESBL مثبت بودند. 72/8%ایزوله های فنوتیپی مثبت دارای ژن PER-1 بودند. با استفاده از روش های DDST و CDT به ترتیب 96/6% و 64/7%از ایزوله های حاوی ژن PER-1 بودند.*

نتیجه گیری: *نتایج این مطالعه نشان دهنده شیوع بالای بتالاکتامازهای وسیع الطیف در ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی و مناسب تر بودن روش CDT در شناسائی ایزوله های تولید کننده ی این آنزیم ها است.*

واژگان کلیدی: *اسینتوباکتر بومانئی، بتالاکتامازهای وسیع الطیف، عفونتهای بیمارستانی*

مقدمه

اسینتوباکتر بومانئی (Acinetobacter baumannii) ، یک کوکوباسیل گرم منفی غیر تخمیر کننده و از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی است. این باکتری عامل عفونت های مهمی چون باکتریمی، پنومونی، مننژیت ثانویه، عفونت دستگاه ادراری و عفونت های سوختگی است. افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی ،بیماران تحت شیمی درمانی ، بیماران با سوختگی شدید و بیمارانی که تحت روش های درمانی تهاجمی هستند، در خطر ابتلا به عفونت های شدید ناشی از این باکتری هستند. بنابر این ، این باکتری از بخشهایی مانند ICU ، جراحی و سوختگی بیشتر جدا می شود(1،2).

یکی از خصوصیات خاص اسینتوباکتر بومانئی علاوه بر مقاومت ذاتی در مقابل شرایط محیطی ،توانائی خارق العاده آن در کسب و بیان ژن های متعدد عامل مقاومت های دارویی است، به شکلی که امروزه این باکتری ، در برابر اکثرآنتی بیوتیک ها مقاوم بوده و درمان عفونت های ناشی از آن از مشکلات عمده جامعه پزشکی در دنیا می باشد. مقاومت در این باکتری یا ذاتی است و یا از طریق عوامل ژنتیکی متحرک از باکتری های دیگر کسب می شود.

Archive of SID
www.SID.ir

از آنتی بیوتیک های مورد استفاده در درمان عفونت های ناشی از ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی ،آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام مانند پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها و کرباپنم ها هستند که در سال های اخیر این باکتری نسبت به اکثریت این آنتی بیوتیک ها مقاوم شده است(3،4). مکانیسم های مختلفی در ایجاد مقاومت ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام دخالت دارند که تولید آنزیم های بتالاکتاماز توسط این باکتری ،از مهم ترین عوامل ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها است(۶،۵). بتالاکتامازها به روش های مختلفی طبقه بندی شده اند که یکی از این روش ها، طبقه بندی مولکولی Ambler است. اساس طبقه بندی در این روش تشابه ساختمان پروتئینی آنزیم است و بتالاکتامازها به چهار کلاس اصلی (A تا D) تقسیم می شوند(7). بتالاکتامازهای وسیع الطیف (Extended Spectrum β-Lactamases -ESBLs) ، دسته ای از بتالاکتامازهای گروه A هستند که می توانند موجب هیدرولیز پنی سیلین ها ، سفالوسپورین های نسل اول ، دوم وسوم ومونوباکتام شده اما توسط اسید کلاولانیک مهار می شوند(8). بتالاکتاماز وسیع الطیف تیپ PER-1 که در سال 1993 برای اولین بار شناسائی شد، از شایع ترین تیپ های ESBL در اسینتوباکتر بومانئی است(9). بالاترین شیوع این ژن از کشورهایی مانند ترکیه ، کره جنوبی و چین گزارش شده است(12-10). برای شناسائی ایزوله های تولید کننده ESBL از روش های فنوتیپی مانند Test (CDT) Combined Disk و Double Disk Synergy Test (DDST) و ژنوتیپی مانند PCR استفاده می شود(۱۴،۱۳).

با توجه به شیوع بالای ژن PER-1 در کشور همسایه ما ترکیه و عدم وجود مطالعه ای در خصوص میزان شیوع این ژن در این منطقه و همچنین لزوم آگاهی از علل مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام ، در این مطالعه با استفاده از روش های فنوتیپی و ژنوتیپی به تعیین میزان شیوع ژن PER-1 در ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی پرداخته ایم.

روش کار

در این مطالعه توصیفی – مقطعی تعداد 100 ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی از نمونه های مختلف بالینی شامل تراشه، خون، خلط، زخم مایع پلور، مایع آسیت و مایع نخاع بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز جمع آوری شد و پس از انتقال به آزمایشگاه گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی بر روی محیط های مکانکی و بلاد آگار تلقیح گردید و پس از رشد در دمای 37 به مدت 48-24 ،رنگ آمیزی گرم انجام و کوکسی وکوکوباسیل های گرم منفی از نظر تست اکسیداز بررسی شد. نمونه های اکسیداز منفی با استفاده از تست های بیوشیمیایی مانند تست سیترات، تست حرکت ، تست OF (Oxidation Fermentation) و رشد در دمای 44-42 بررسی شدند(1). تعیین هویت قطعی با استفاده از آزمون PCR و شناسائی ژن OXA-51 انجام شد(15). نمونه هایی که فاقد این ژن بودند از مطالعه، حذف شدند.

برای غربال کردن تولید ESBL سوسپانسیونی از باکتری معادل 5/ مک فارلند تهیه و در محیط مولر هینتون آگار تلقیح شد. سپس ارگانیسم های تولید کننده ESBL بر طبق اصول Clinical Laboratory) (CLSI Standard Institute با استفاده از آنتی بیوتیک های پیشنهادی غربال شدند. به این ترتیب که حساسیت ایزوله ها نسبت به پنج آنتی بیوتیک سفتریاکسون (30 µg) سفتازیدیم(30 µg), سفوتاکسیم(30 µg), سفپودوکسیم (10µg) و آزترونام (30 µg)(شرکت MAST) با آزمون دیسک آگار دیفیوژن به روش کربی بوئر(Kirby-bauer) تعیین شد. بر اساس معیارهای CLSI قطر هاله عدم رشد مساوی یا بیشتر از 27 میلی متر برای سفوتاکسیم (30 µg) و آزترونام (30 µg) ، مساوی یا بیشتر از 22 میلی متر برای سفتازیدیم (30 µg) ، مساوی یا بیشتر از 25 میلی متر برای سفتریاکسون (30 µg) و مساوی یا بیشتر از 17 میلی متر برای سفپودوکسیم (10µg) ، به منزله مقاوم بودن باکتری به این آنتی بیوتیک ها است. در این تست مقاومت به حداقل یکی از آنتی بیوتیک های مزبور را تحت عنوان تست غربالی مثبت ESBL جهت ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی در نظر می گیریم(13). در مرحله بعد، ایزوله های غربالی مثبت با استفاده از روش های فنوتیپی تاییدی مانند Combined Disk Test (CDT) و Double Disk Synergy Test (DDST) بررسی شدند.

در روش Combined Disk Test (CDT) (روش استاندارد CLSI پس از تهیه سوسپانسیون معادل 5/ مک فارلند و کشت بر روی محیط مولر هینتون ، دیسک های سفوتاکسیم / سفوتاکسیم + اسید کلاولانیک و سفتازیدیم / سفتازیدیم+ اسید کلاولانیک با فاصله مناسب از هم بر روی محیط مولر هینتون آگار قرار داده شده و پس از 18 ساعت ،قطر هاله عدم رشد اندازه گیری می شود که اگر هاله عدم رشد در دیسک های ترکیبی حاوی اسید کلاولانیک نسبت به حالت بدون اسید کلاولانیک ،5 میلیمتر یا بیشتر افزایش هاله عدم رشد نشان داد، به معنای مثبت شدن این تست و تایید تولید ESBL. است(13).

در روش Double Disk Synergy Test (DDST) پس از کشت باکتری بر روی محیط مولر هینتون آگار ، دیسک ترکیبی آموکسی سیلین +اسید کلاولانیک (آگمنتین ، ساخت شرکت MAST) را در مرکز پلیت گذاشته و در اطراف آن دیسک های سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفپیم و آزترونام را در چهار جهت در فواصل 10 ، 20 ، 30 میلی متری از دیسک مرکزی قرار می دهیم . سپس پلیت را به مدت 18 ساعت در دمای 37 درجه قرار داده و نتایج را بررسی می کنیم. افزایش هاله حساسیت و امتداد این هاله به طرف دیسک مرکزی (آموکسی سیلین + اسید کلاولانیک) ، به عنوان مثبت شدن تست و تایید نهایی تولید ESBL در نظر گرفته می شود(14).

در تمام آزمایش ها از ایزوله استاندارد اشریشیاکلی ATCC 25922 به عنوان کنترل منفی و از ایزوله استاندارد کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

برای تکثیر ژن های OXA-51 و PER-1 به روش PCR ، DNA توتال تمامی ایزوله ها با استفاده از روش جوشاندن استخراج شد. Mastermix مورد استفاده در PCR شامل dNTP ، $MgCl_2$ ، بافر x 10، Taq DNA Polymerase ، پرایمر ژنهای OXA-51 و PER-1 و نمونه DNA ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی بود. توالی پرایمر های مورد استفاده در جدول شماره 1 آمده است. واکنش PCR در دستگاه ترمال سایکلر (Eppendorf) به صورت: دناتوراسیون اولیه (Initial denaturation) در 95 درجه سانتیگراد به مدت 5 دقیقه، سپس سیکل اصلی 30 بار تکرار شامل: مرحله دناتوراسیون (Denaturation) در 94 سانتی گراد به مدت یک دقیقه ، مرحله اتصال (Annealing) (برای ژن OXA-51 در 50 درجه سانتی گراد و برای ژن PER-1 در 51 درجه سانتی گراد هر کدام به مدت 1 دقیقه) ،مرحله تکثیر (Extension) یک دقیقه در 50 درجه سانتی گراد و نهایتا تکثیر نهائی (Final extension) (یک سیکل به مدت ده دقیقه در 72 درجه سانتی گراد انجام شد.

Archive of SID
www.SID.ir

جهت بررسی محصولات PCR در ژل آگاروز 1% با ولتاژ 90 به مدت 60 دقیقه الکتروفورز شده و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید به مدت 15 دقیقه ، در دستگاه Gel Document باندهای مربوطه مشاهده و عکس برداری شد. جهت تعیین اندازه محصولات PCR از سایز مارکر 1Kb DNA (ساخت شرکت Fermentase) استفاده شد. برای کنترل مثبت ژنهای OXA-51 و PER-1 به ترتیب از سویه های استاندارد اسینتوباکتر بومانئی NCTC 12516 و سودوموناس آئروژینوزا استفاده شد. نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه 16 و آزمون مربع کای تجزیه و تحلیل شد. P value کمتر از 0/5 به عنوان دامنه معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

جدول شماره 1. توالی پرایمر های مورد استفاده در شناسائی ژنهای OXA-51 و PER-1 (16،17)

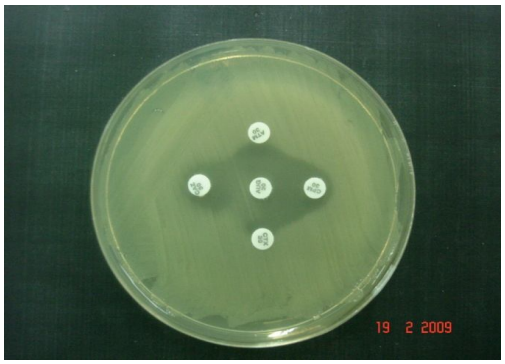
پرایمر	توالی نوکلئوتیدی	اندازه باند
OXA-51-F OXA-51-R	5´AACAAGCGCTATTTTTATTTCAG 3´ 5´CCCATCCCCAACCACTTTT 3´	640 bp
PER-1-F PER-1-R	5´ATGAATGTCATTATAAAAGC 3´ 5´AATTTGGGCTTAGGGCAGAA 3´	925 bp

یافته ها

در این مطالعه توصیفی مقطعی از آذر ماه سال 1387 تا آذر ماه 1388 تعداد 100 نمونه بالینی شامل خون ،ادرار ،ترشحات لوله تراشه ، مایع نخاع و سایر موارد از بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز جدا شد که از این تعداد 100 ایزوله اسینتوباکتر بومانئی با استفاده از روش های بیوشیمیائی و میکروب شناسی شناسائی شده و تشخیص در سطح گونه با استفاده از آزمون PCR و بررسی وجود ژن OXA-51 انجام شد که 100 ایزوله جدا شده از نظر این ژن مثبت بودند.

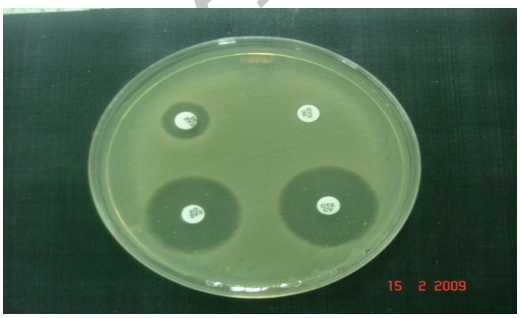
نتایج تست غربالی تولید ESBL انجام شده روی این نمونه ها نشان داد که همه 100 ایزوله اسینتوباکتر بومانئی جدا شده، حداقل به یکی از پنج آنتی بیوتیک انتخابی (سفتریاکسون ، سفوتاکسیم، سفتازیدیم ، سفپودوکسیم و آزترونام) مقاومت و از نظر تست غربالی تولید ESBL مثبت بودند که در مرحله بعد جهت انجام تست های تاییدی مورد بررسی قرار گرفتند.

برای انجام تست DDST از فاصله گذاری های 10 ، 20 و 30 میلی متر استفاده شد. در فواصل20 و 30 میلی تر، نتایج بیشتر آنها منفی بود و با کاهش فاصله به میزان 10 میلی متر ،53 مورد (53%) نتیجه مثبت نشان دادند. بیشترین موارد مثبت مشاهده شده نشان دهنده سینرژی بین دیسک سفپیم و دیسک مرکزی (آموکسی سیلین +اسید کلاولانیک) بود که 66% (35/5) را شامل شد. 20/8% موارد (11/5) نشان دهنده سینرژی بین هر چهار دیسک استفاده شده در این تست (سفوتاکسیم ،سفتازیدیم، سفپیم و آزترونام) و دیسک مرکزی بود. در 9/4% (5/5) از موارد مثبت این تست سینرژی بین دیسک های سفپیم و سفتازیدیم و دیسک مرکزی و در 3/7% موارد(2/5) سینرژی بین دیسک های سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفپیم و دیسک مرکزی مشاهده شد(شکل 1).



شکل 1: شناسائی ایزوله های اسینتوباکتر بومئی تولید کنندهESBL با استفاده از روش DDST

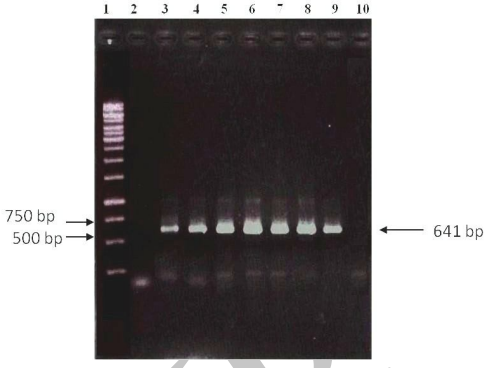
در تست تاییدی CDT ، 64 مورد (64%) ایزوله ها مثبت بودند که در 70/4% این موارد (45/6) ، نتایج هر دو تست ترکیبی (سفوتاکسیم/سفوتاکسیم+ اسید کلاولانیک و سفتازیدیم/سفتازیدیم + اسید کلاولانیک) یک سان بود. 15/6% موارد (10/6) با استفاده از تست ترکیبی سفوتاکسیم/سفوتاکسیم+ اسید کلاولانیک و 14% موارد (9/6) ، با استفاده از تست ترکیبی سفتازیدیم و سفتازیدیم + اسید کلاولانیک مثبت شدند. بطورکلی با استفاده از هر دو تستهای تاییدی CDT وDDST ، 70 ایزوله اسینتوباکتر بومانئی (70%) تولید کننده ESBL بودند.



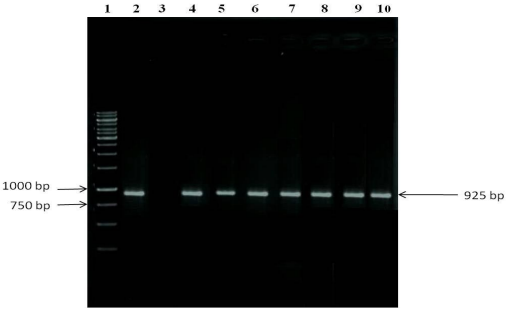
شکل 2: شناسائی ایزوله های اسینتوباکتر بومئی تولید کنندهESBL با استفاده از روش CDT

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج آزمون PCR انجام شده بر روی 70 ایزوله ESBL مثبت ، نشان داد که 72/8% این ایزوله ها (51/7) دارای ژن PER-1 بودند. با روش CDT، 96% و با روش DDST 64/7% ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی دارای ژن PER-1 بودند($p<0.001$، شکل 3 و 4).



شکل شماره 3: تکثیر ژن OXA-51، ستون 1 سایز مارکر 1Kb، ستون 2 No DNA ، ستون 3 کنترل مثبت ، ستون 4 تا 9 ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی حاوی ژن OXA-51



شکل شماره 4: تکثیر ژن PER-1، ستون 1 سایز مارکر 1Kb، ستون 2 کنترل مثبت ، ستون 3 No DNA ، ستون 4 تا 10 ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی حاوی ژن PER-1

بحث

عفونت های بیمارستانی از جمله مشکلات مهم جامعه پزشکی است که هر ساله موجب خسارت های جانی و مالی فراوان می گردد. اسینتوباکتر بومانئی یکی از عوامل مهم این عفونت ها است که در حال حاضر به اکثریت آنتی بیوتیک های مورد استفاده در محیط بیمارستان مقاومت نشان می دهد به شکلی که درمان عفونت های ناشی از آن به صورت یک مشکل جهانی درآمده است(1-3). از جمله آنتی بیوتیک های مورد استفاده در درمان عفو نت های ناشی از این باکتری ، آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام است که مطالعات انجام شده در سال های اخیر نشان دهنده ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیکها است. مکانیسم های مختلفی در ایجاد این مقاومت نقش دارند که مهم ترین آنها تولید آنزیم های بتالاکتاماز بخصوص بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) توسط این باکتری است(4-6).

نتایج مطالعه حاضر که با هدف تعیین میزان شیوع ایزوله های اسینتو باکتر بومانئی تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) با روش های مختلف انجام شد نشان می دهد که همه ایزوله های جدا شده از نظر تست غربالی تولید ESBL مثبت بودند. این نتایج با نتایج مطالعاتی که توسط Yong و Jeong در سالهای 2003 و 2005 در کره جنوبی انجام شده و نشان دهنده مثبت بودن این تست در اکثریت ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی است مطابقت دارد (18، 11). در این مطالعه 53% از این ایزوله ها با استفاده از تست تاییدی DDST مثبت بودند که این نتایج نسبت به نتایجی که توسط sinha و endimiani در هند و ایتالیا که به ترتیب به میزان 28% و 26% گزارش شده ، بیشتر است(20، 19). نتایج بدست آمده از تست تاییدی DDST نشان داد که انجام این تست در فاصله های 20 و 30 میلی متر که معمولا در مورد باکتری های خانواده آنتروباکترویاسه توصیه شده در مورد اسینتوباکتر بومانئی نتایج مناسبی نداده و اکثریت نمونه ها در این فاصله گذاری نتایج منفی نشان دادند. اما با کاهش فاصله دیسک ها به 10 میلی متر نتایج قابل قبولی بدست امد که با نتایج تست توصیه شده CLSI یعنی CDT مطابقت داشت. نتایج مطالعات دیگرانجام شده با این روش نیز نتایج مشابهی را نشان داد است. نتایج مطا لعه ای که توسط Yong و هم کاران در سال 2003 در کره جنوبی انجام شده نشان می دهد که با کاهش فاصله به 10 میلی متر و حتی کمتر نتایج بهتری بدست آمد به صورتی که از 53 نمونه که با استفاده از آزمون PCR وجود ژن های عامل تولید ESBL در آنها به اثبات رسیده بود 98% نمونه ها با استفاده از این تست تاییدی مثبت شدند(11) . هم چنین در مطالعه Jeong و هم کاران نیز با کاهش فاصله نتایج مشابهی بدست آمد(18).

نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین سینرژی به سمت دیسک سفپیم است که 66% (35/5) موارد تست مثبت شده را شامل می شد. در مطالعه Jeong در سال 2003 (18) و Sinha در سال 2007 (19) نمونه های اسینتوباکتر بومانئی تست شده با این روش به ترتیب به میزان 90% و 76% سینرژی به سمت دیسک سفپیم را نشان دادند که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد.

نتایج تست CDT نشان داد که 64% از نمونه ها تولید کننده ESBL بودند. در مطالعه Endemiani و هم کاران در سال 2007 در ایتالیا 28% ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی تولید کننده ESBL بودند(20) که نشان دهنده شیوع بیشتر ایزوله های تولید کننده ESBL در مطالعه ما است.

نتایج هر دو تست تاییدی در این مطالعه نشان داد که در مجموع 70% ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی تولید کننده ESBL بودند. این ایزوله ها در مرحله بعد و با استفاده از تست PCR از نظر وجود ژن PER-1 بررسی شدند که 72/8% این ایزوله ها (51/7) دارای این ژن بودند. با توجه به بررسی های انجام شده این اولین گزارش از وجود ژن PER-1 در ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی جدا شده از ایران است. مطالعات انجام شده در کشورهای دیگر مانند ترکیه ، کره جنوبی و چین میزان شیوع این ژن را در اسینتوباکتر بومانئی به ترتیب 46% ، 54/6% و 77/8% گزارش کرده اند که با نتایج مطالعه ما هم خوانی داشته و نشان دهنده شیوع بالای این ژن بخصوص در کشورهای آسیائی است(12-10).

شیوع بالای این ژن در کشور ترکیه که در مجاورت ایران و استان آذربایجان شرقی قرار گرفته هم چنین وجود ارتباطات نزدیک بین این دو منطقه می تواند یکی از علل احتمالی در انتقال ژن PER-1 و در نتیجه شیوع بالای این ژن در این منطقه باشد که البته اثبات این فرضیه ، نیاز به بررسی بیشتر بخصوص تعیین تیپ های شایع در این منطقه و مقایسه آن با تیپ های شایع در کشور ترکیه دارد.

نتایج این مطالعه نشان می دهد با استفاده از روش CDT ، 96% ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی دارای ژن PER-1 بودند در حالی که با استفاده از روش DDST ، 64/7% ایزوله های حاوی این ژن شناسائی شدند که نشان می دهد هر چند ارتباط معنی داری بین نتایج این روشها و وجود ژن PER-1 وجود دارد ($p<0.001$). اما با استفاده از تست CDT تعداد بیشتری از ایزوله های حاوی ژن شناسائی شدند.

تست DDST با وجود این که کم هزینه است اما به دلیل وجود رفرانس های مختلف در خصوص میزان فاصله گذاری های بین دیسک ها و هم چنین کوچک بودن سینرژی و مشکل بودن تفسیر نتایج آن کمتر توصیه می گردد. اما تست CDT از نظر انجام و تفسیر نتایج ساده تر بوده و با توجه به نتایج این مطالعه ، این روش با دقت بالاتری ایزوله های تولید کننده ژن های ESBL بخصوص PER-1 را تشخیص داده و در مطالعات مشابه می تواند به عنوان روش ارجح استفاده گردد. همچنین در این روش می توان با اضافه کردن دو دیسک ترکیبی حاوی اسید کلاولانیک به دیسک های معمول مورد استفاده در تست آنتی بیوگرام ، هم زمان با این آزمون ، تست تاییدی تولید ESBL را نیز انجام داد که در وقت و هزینه انجام این تستها صرفه جوئی می گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که میزان شیوع ژن PER-1 در ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی جدا شده بسیار بالا بوده و می تواند به عنوان یکی از عوامل اصلی مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام در این باکتری مدنظر قرار گیرد. خودداری از مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها و هم چنین استفاده از داروهای موثر در درمان عفونت های ناشی از این باکتری می تواند در پیشگیری از گسترش مقاومتها در این گونه موثر باشد.

REFERENCES

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

2. Towner K. (2006). The Genus Acinetobacter. Prokaryotes. 2006;6: 746-758.

3. Peleg A, Seifert H, Paterson D. Acinetobacter baumannii: Emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. 2008;21(3): 538-582.

4. Perez F, Hujer A, Hujer K, Decker B, Rather P, Bonomo R. Global challenge of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51 (10): 3471-3484.

5. Walsh, C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. Nature. 2000;406 (6797): 775-781.

6. McGowan, JE. Resistance in nonfermenting Gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. The American Journal of Medicine. 2006;119: S29-S36.

7. Ambler RP. The structure of β-lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 1980;289(1036): 321-31.

8. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect. 2006;12(9): 826-836.

9. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum β-lactamase from Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 1993;37(5): 962–969.

10. Vahaboglu H., Ozturk R, Aygun G, Coskunkan F, Yaman A, Kaygusuz H. et al. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial Acinetobacter and Pseudomonas aeruginosa isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. Antimicrob Agents Chemother. 1997;41(10): 2265-2269.

11. Yong D, Shin JH, Kim S, Lim Y, Yum JH, Lee K, et al (). High prevalence of PER-1 extended-spectrum betalactamase-producing Acinetobacter spp. in Korea. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(5): 1749-1751.

12. 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. Antimicrob Agents Chemother, 2007; 5(11): 4022-4028.

13. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: sixteenth informational supplement. 2006;CLSI document M100-S16. CLSI, Wayne, Pa.

14. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broadspectrum β-lactamases conferring transferable resistance to newer β-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis. 1988;10(4): 867-78.

Archive of SID
www.SID.ir

15. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, and Pitt TL. Identification of Acinetobacter baumannii by detection of the bla_{OXA-51}-like carbapenemase gene intrinsic to this species. J Clin Microbiol. 2006;44(8): 2974-2976.

16. Ruiz M, Marti S, Fernandez-Cuenca F, Pascual A, Vila J. High prevalence of carbapenem-hydrolysing oxacillinases in epidemiologically related and unrelated Acinetobacter baumannii clinical isolates in Spain. Clin Microbiol Infect. 2007;13 (12):1192-1198.

17. Poirel, L., A. Karim, A. Mercat, I. Le Thomas, H. Vahaboglu, C. Richard, and P. Nordmann. Extended-spectrum beta-lactamase-producing strain of Acinetobacter baumannii isolated from a patient in France. J Antimicrob Chemother. 1999;43(1): 157-158.

18. Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Yong D, Woo GJ, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of Acinetobacter baumannii producing PER-1 extended-spectrum beta-lactamase in an intensive care unit. J Hosp Infect. 2005;59(3): 242-8.

19. Sinha M, Srinivasa H, Macaden R. Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in Acinetobacter species. Indian J Med Res. 2007;126(1): 63-67

20. Endimiani A., Luzzaro F, Migliavacca R, Mantengoli E, Hujer AM, Hujer KM, et al. Spread in an Italian hospital of a clonal Acinetobacter baumannii strain producing the TEM-92 extended-spectrum beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(6): 2211-2214.

Archive of SID

www.SID.ir