مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و چهارم/شماره‌ی ۴۰۷/هفته‌ی سوم دی ماه ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۶

بررسی فراوانی ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در ایزوله‌های Acinetobacter baumannii جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه

فاطمه امینی[۱]، حسن‌علی کریم‌پور[۲]، سیاوش وزیری[۳]، مهدی قادری[۴]، سعید محمدی[۲]، محسن عزیزی[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: Acinetobacter، باکتری فرصت‌طلب و از عوامل ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی است که دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالایی می‌باشد. این مطالعه، با هدف تعیین الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های aphA6 و aadB در Acinetobacter baumannii جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU یا Intensive care unit) انجام گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی- مقطعی، ۵۸ ایزوله‌ی Acinetobacter baumannii از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان امام رضای (ع) کرمانشاه جمع‌آوری و با استفاده از روش‌های باکتری‌شناسی اختصاصی شناسایی شدند. برای شناسایی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها از روش دیسک دیفیوژن (Disk diffusion) استفاده شد. برای شناسایی فراوانی ژن‌های aphA6 و aadB، از روش Polymerase chain reaction (PCR) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آن‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: در ایزوله‌های مورد بررسی، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر تیکارسیلین (۸۷/۹ درصد) و سفتازیدیم (۸۶/۲ درصد) و کمترین مقاومت در پلی‌میکسین B (۱۲/۱ درصد) بود. از مجموع ۵۸ ایزوله‌ی Acinetobacter، ۳۶ مورد (۶۲/۱ درصد) ژن aphA6 و ۹ مورد (۱۵/۵ درصد) ژن aadB را داشتند. همچنین، ۵ مورد (۸/۶ درصد) دارای هر دو ژن و ۱۸ نمونه (۳۱/۳ درصد) فاقد هر دو ژن بودند.

نتیجه‌گیری: ۸۰ درصد از ایزوله‌های Acinetobacter جدا شده، به آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی مقاومت نشان دادند. با توجه به میزان بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به این دسته آنتی‌بیوتیک و اکثر آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده در این مطالعه، دقت در استفاده از آنتی‌بیوتیکی مانند پلی‌میکسین B برای درمان عفونت‌های ناشی از این پاتوژن ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: Acinetobacter، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، آمینوگلیکوزیدها

ارجاع: امینی فاطمه، کریم‌پور حسن‌علی، وزیری سیاوش، قادری مهدی، محمدی سعید، عزیزی محسن. **بررسی فراوانی ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در ایزوله‌های Acinetobacter baumannii جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۴۰۷): ۱۳۸۸-۱۳۸۱

مقدمه

Acinetobacter کوکوباسیل گرم منفی، غیر تخمیر کننده، فاقد حرکت و اکسیداز منفی است که به دلیل نیازمندی‌های تغذیه‌ای پایین، توانایی رشد در اکثر منابع انسانی و محیطی را دارد. بیشترین میزان شیوع عفونت‌های حاصل از این باکتری در مناطق مرطوب و گرم است (۲-۱). در میان گونه‌های مختلف این باکتری، کمپلکس Acinetobacter که از A.baumannii و A.calcoaceticus تشکیل شده است، بیشترین عامل عفونت‌های حاصل از این باکتری را به خود اختصاص داده است (۳). این باکتری، می‌تواند باعث عفونت بیمارستانی، عفونت دستگاه ادراری، پنومونی، زخم‌های عفونی و منتژیت شود. Acinetobacter با وجود ویرولانس پایین، توانایی بالایی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی به خصوص در بخش‌های

۱- دستیار پژوهشی، کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲- استادیار، گروه بیهوشی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳- دانشیار، گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۴- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: محسن عزیزی
Email: .azizi9889@yahoo.com

مراقبت ویژه، سوختگی و جراحی را دارد (۵-۲). این باکتری، می‌تواند در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU یا Intensive care unit) برای مدت طولانی بر روی پوست و وسایل موجود در این بخش زنده بماند که این مسأله، زمینه‌ی انتشار باکتری و ایجاد عفونت در این بیماران را فراهم می‌آورد (۶).

اهمیت بالینی این پاتوژن، به واسطه‌ی کسب سریع ژن‌های مقاومت به انواع فراوانی از آنتی‌بیوتیک‌ها است، که به همین علت، کنترل عفونت‌های ناشی از آن را بسیار دشوار کرده است (۷). بررسی‌ها نشان داده است که گونه‌های مقاوم به چند داروی (MDR یا Multiple drug resistance) این باکتری بیماری‌زا، به سرعت در بین بیماران بستری شده در بیمارستان گسترش یافته است و اکثر گونه‌های Acinetobacter به خصوص گونه‌ی Acinetobacter baumannii به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند (۹-۸). برای درمان عفونت‌های ناشی از Acinetobacter، از آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها استفاده می‌شود، اما در سال‌های اخیر، به دلیل استفاده‌ی نامناسب و بی‌رویه از این آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت نسبت به آن‌ها افزایش چشمگیری داشته است (۱۰).

مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در Acinetobacter baumannii شامل تغییر آنزیمی، موتاسیون در ژن‌های هدف، تغییر نفوذپذیری غشای خارجی و افزایش بیان ایفلاکس پمپ‌ها می‌باشد (۱۲-۱۱). در میان مکانیسم‌های مختلف مقاومت آنتی‌بیوتیکی در Acinetobacter، تغییر آنزیمی مهم‌ترین مکانیسم نسبت به آمینوگلیکوزیدها محسوب می‌شود. این مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ناشی از حضور ژن‌هایی در باکتری به نام آنزیم‌های تغییر دهنده‌ی آمینوگلیکوزید (AMEs یا Aminoglycoside modifying enzymes) است. خانواده‌ی AMEs، بر اساس نوع فعالیت آنزیمی به سه گروه اصلی آمینوگلیکوزید فسفوترانسفراز (Aminoglycoside phosphotransferase یا APH)، آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز (AAC یا Aminoglycoside acetyltransferases) و آمینوگلیکوزید نوکلئوتیدیل ترانسفراز (AAD یا Aminoglycoside adenylyltransferase) طبقه‌بندی شده است.

آنزیم‌های آمینوگلیکوزید فسفوترانسفراز، گروه هیدروکسیل موجود در ساختار آمینوگلیکوزیدها را با کمک (ATP یا Adenosine triphosphate) فسفریله می‌کند. تاکنون هفت گروه مختلف از این آنزیم‌ها شناسایی شده‌اند. بزرگ‌ترین گروه آنزیمی این خانواده، *Aph*(3′)-I است که گروه هیدروکسیل آنتی‌بیوتیک را در موقعیت ۳′ فسفریله می‌کند. در این خانواده‌ی آنزیمی، ژن aphA6 دارای بیشترین شیوع است و عامل مقاومت به آمینوگلیکوزیدهایی از جمله جنتامایسین، آمیکاسین، کانامایسین، پاروموماسین و نئومایسین می‌باشد. گروه آنزیمی آمینوگلیکوزید نوکلئوتیدیل ترانسفراز، به ۵ گروه مختلف طبقه‌بندی شده‌اند. این آنزیم‌ها، Adenosine monophosphate (AMP) حاصل از دفسفریلاسیون ATP را به ترتیب به گروه هیدروکسیل موقعیت ۲′-۳′-۴′-۶-۹ در ساختار آمینوگلیکوزید انتقال می‌دهد (۱۴-۱۳).

به علت شیوع بالای عفونت‌های بیمارستانی در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، بررسی میکروارگانیسم‌های مولد این عفونت‌ها و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها بسیار حایز اهمیت است. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تشخیص ملکولی ژن‌های aphA6 و aadB در نمونه‌های Acinetobacter baumannii جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان امام رضا (ع) در شهر کرمانشاه در سال ۱۳۹۴ انجام شد.

روش‌ها

در این مطالعه، تعداد ۳۲۰ نمونه‌ی بالینی مختلف (زخم، خون، خلط، ادرار، کاتتر و سایر مایعات) جمع‌آوری شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان امام رضا (ع) شهر کرمانشاه در سال ۱۳۹۴، مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری و انتقال به آزمایشگاه، بر روی محیط کشت‌های Blood agar و McConkey agar کشت داده و در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس، برای شناسایی Acinetobacter baumannii، از آزمون‌های استاندارد بیوشیمیایی شامل کاتالاز، اکسیداز، عدم تخمیر لاکتوز و کشت روی محیط‌های سیترات، Sulfid-indole-motility (SIM)، Triple-sugar-iron (TSI) و تولید پیگمان استفاده گردید. در مجموع، تعداد ۵۸ ایزوله‌ی Acinetobacter مورد شناسایی قرار گرفت. به منظور تأیید نهایی ایزوله‌های Acinetobacter baumannii، از روش Polymerase chain reaction (PCR) با استفاده از ژن blaOXA-51 مطابق سایر مطالعات استفاده گردید (۱۵). سپس، آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (Disk diffusion) و با به کارگیری استاندارد ۰/۵ McFarland و مطابق با دستورالعمل‌های Clinical and laboratory standards institute 2010 (CLSI 2010) انجام گرفت (۱۶).

در ابتدا، باکتری‌های جدا شده بر روی محیط Muller-Hinton agar (شرکت های‌مدیا، هندوستان) کشت داده شد.

جدول ۱. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی **Acinetobacter baumannii** مولد ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها

نام ژن	وزن محصول (bp)	دمای انیلینگ (°C)	توالی نوکلئوتیدی پرایمرها (3́-5́)	رفرنس
OXA-F OXA-R	۱۸۸ bp	۵۳	5́-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3́ 5́-TGGATTGCACTTCATCTTGG-3́	۱۷
aphA6-F aphA6-R	۷۹۷ bp	۵۵	5́-ATGGAATTGCCCAATATTATTC-3́ 5́-TCAATTCAATTCATCAAGTTTTA-3́	۲۳
aadB-F aadB -R	۵۳۴ bp	۵۵	5́-ATGGACACAACGCAGGTCGC-3́ 5́-TTAGGCCGCATATCGCGACC-3́	۲۳

برای بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این باکتری‌ها، از ۱۰ دیسک آنتی‌بیوتیکی (شرکت های‌مدیا، هندوستان) شامل جنتامایسین، کانامایسین، توبرامایسین، تیکارسیلین، سفتازیدیم، کوتریموکسازول، ایمی‌پنم، سیپروفلوکساسین، پیپراسیلین/تازوباکتام و پلی‌میکسین B استفاده شد. سپس، قطر هاله‌ی عدم رشد، با خط‌کش اندازه‌گیری شد و با استفاده از جداول CLSI 2010 نتایج آن‌ها گزارش گردید. در این مطالعه، از سویه‌های استاندارد Acinetobacter baumannii (ATCC19606) و Escherichia coli (ATCC25922) جهت کنترل کیفی استفاده شد.

در ادامه، برای شناسایی وجود ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها به کمک پرایمرهای اختصاصی و طبق جدول ۱، واکنش PCR انجام شد. ابتدا کل محتوای ژنومی باکتری با استفاده از روش جوشاندن استخراج گردید. به این منظور، چندین کلنی خالص باکتری در ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شد و پس از ۵ دقیقه جوشاندن و خنک شدن در مرحله‌ی بعد، در دور g × ۷۰۰۰ به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی جهت انجام واکنش PCR به لوله‌های اپندورف جدید منتقل گردید و به عنوان DNA باکتری به کار رفت. برای واکنش PCR، از Master mix (شرکت سینا کلون، ایران) استفاده شد. محصول PCR با استفاده از الکتروفورز و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، با دستگاه ژل داک مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت، نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون‌های Independent t و χ^2 در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

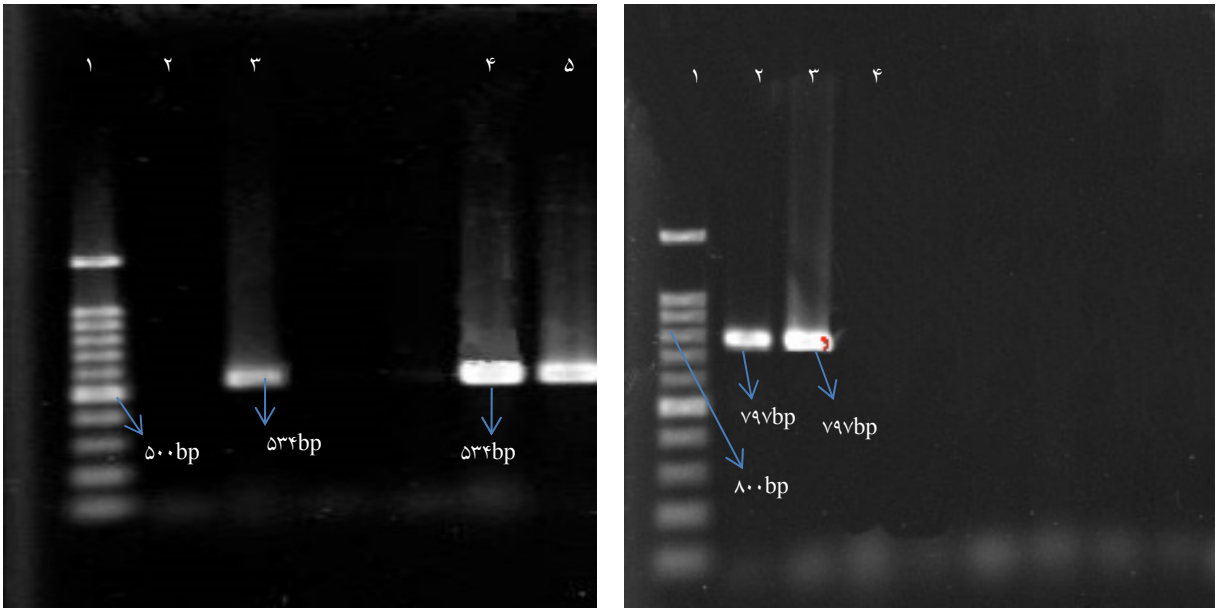
یافته‌ها

در این مطالعه، از مجموع ۳۲۴ نمونه‌ی بالینی مورد بررسی، ۵۸ ایزوله (۱۷/۹ درصد) Acinetobacter baumannii جدا شد. از این تعداد، ۳۱ نمونه (۵۳/۵ درصد) در مردان و ۲۷ نمونه (۴۶/۵ درصد) در زنان بود. میانگین سنی بیماران ۱۶/۳۰ ± ۳۹/۸۱ سال با دامنه‌ی ۷۵-۱۴ سال بود. نمونه‌ها از بیماران مبتلا به باکتریمی، عفونت‌های تنفسی (وابسته به ونتیلاتور و غیر وابسته به ونتیلاتور)، عفونت ادراری و عفونت مایع مغزی- نخاعی اخذ شدند. از این تعداد Acinetobacter جدا شده، ۳۹ نمونه (۶۷/۲ درصد) از خون، ۶ نمونه (۱۰/۳ درصد) از مایع مغزی- نخاعی، ۵ نمونه (۸/۶ درصد) از کاتتر، ۳ نمونه (۵/۲ درصد) از تراشه، ۲ نمونه (۳/۵ درصد) از ادرار، ۲ نمونه (۳/۵ درصد) از مایع پلورال و ۱ نمونه (۱/۷ درصد) از خلط جداسازی شد.

بر اساس نتایج جدول ۲، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های Acinetobacter baumannii نشان داد که بیشترین مقاومت در برابر تیکارسیلین (۸۷/۹ درصد) و سفتازیدیم (۸۶/۲ درصد) و کمترین میزان مقاومت در برابر پلی‌میکسین B (۱۲/۱ درصد) بود. از مجموع ۵۸ ایزوله‌ی Acinetobacter، ۳۶ نمونه (۶۲/۱ درصد) دارای ژن aphA6 و ۹ نمونه (۱۵/۵ درصد) دارای ژن aadB بودند.

جدول ۲. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های **Acinetobacter baumannii** جداسازی شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن

آنتی‌بیوتیک	میزان مقاومت تعداد (درصد)	حساسیت حد واسط تعداد (درصد)	میزان حساسیت تعداد (درصد)
جنتامایسین	۴۵ (۷۶/۶)	۲ (۳/۴)	۱۱ (۱۹/۰)
کانامایسین	۴۹ (۸۴/۵)	۳ (۵/۲)	۶ (۱۰/۳)
تیکارسیلین	۵۱ (۸۷/۹)	۰ (۰)	۷ (۱۲/۱)
سفتازیدیم	۵۰ (۸۶/۲)	۳ (۵/۲)	۵ (۸/۶)
توبرامایسین	۴۶ (۷۹/۳)	۴ (۶/۹)	۸ (۱۳/۸)
سیپروفلوکساسین	۴۷ (۸۱)	۵ (۸/۶)	۶ (۱۰/۳)
کوتریموکسازول	۴۸ (۸۲/۸)	۴ (۶/۹)	۶ (۱۰/۳)
پیپراسیلین/تازوباکتام	۴۶ (۷۹/۳)	۵ (۸/۶)	۷ (۱۲/۱)
ایمی‌پنم	۴۸ (۸۲/۸)	۲ (۳/۴)	۸ (۱۳/۸)
پلی‌میکسین B	۷ (۱۲/۱)	۰ (۰)	۵۱ (۸۷/۹)



شکل ۱. نتایج Polymerase chain reaction (PCR) ژن‌های aphA6 و aadB: (aphA6) ۱- نشانگر (bp ۱۰۰)، ۲- شاهد مثبت (bp ۷۹۷)، ۳- نمونه‌ی مثبت (bp ۷۹۷)، ۴- شاهد منفی (aadB)، ۱- نشانگر (bp ۱۰۰)، ۲- شاهد منفی، ۳- شاهد مثبت (bp ۵۳۴)، ۴- نمونه‌ی مثبت (bp ۵۳۴)

نتایج واکنش PCR هر دو ژن در شکل ۱ آمده است. همچنین، ۵ نمونه (۸/۶ درصد) دارای هر دو ژن aphA6 و aadB و نیز ۱۸ نمونه (۳۱/۰ درصد) فاقد هر کدام از دو ژن مورد بررسی بودند. نتایج حاصل از فراوانی ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در ایزوله‌های Acinetobacter دارای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در جدول ۳ آمده است. از مجموع ۵۸ ایزوله‌ی Acinetobacter baumannii ژن aphA6 در نمونه‌های مقاوم به جنتامایسین ۸۰/۰۰ درصد (از ۴۵ نمونه‌ی مقاوم به جنتامایسین، ۳۶ نمونه واجد ژن aphA6 بودند)، توبرامایسین ۷۶/۰۸ درصد (از ۴۶ نمونه‌ی مقاوم به توبرامایسین ۳۵ نمونه واجد ژن aphA6 بودند) و کانامایسین ۷۳/۴ درصد (از ۴۹ نمونه‌ی مقاوم به کانامایسین ۳۶ نمونه واجد ژن aphA6 بودند) مشاهده گردید. همچنین، ژن aadB در نمونه‌های مقاوم به جنتامایسین ۲۰ درصد (از ۴۵ نمونه‌ی مقاوم به جنتامایسین ۹ نمونه واجد ژن aadB بودند)، کانامایسین ۱۸/۳ درصد (از ۴۹ نمونه‌ی مقاوم به کانامایسین ۹ نمونه واجد ژن aadB بودند) و توبرامایسین ۱۷/۳ درصد (از ۴۶ نمونه‌ی مقاوم به توبرامایسین ۸ نمونه واجد ژن aadB بودند) شناسایی گردید.

جدول ۳. فراوانی ژن‌های کد کننده‌ی مقاومت به آمینوگلیکوزیدهای جدا شده از ایزوله‌های Acinetobacter baumannii به نسبت الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی مختلف

آنتی‌بیوتیک‌ها	(۳۶) aphA6			(۹) aadB		
	R	I	S	R	I	S
جنتامایسین	۳۶	۰	۰	۹	۰	۰
کانامایسین	۳۶	۰	۰	۹	۰	۰
تیکارسیلین	۳۶	۰	۰	۹	۰	۰
سفتازیدیم	۳۰	۲	۴	۹	۰	۰
توبرامایسین	۳۵	۱	۰	۸	۱	۰
سیپروفلوکساسین	۳۱	۱	۴	۶	۱	۲
کوتریموکسازول	۳۱	۲	۳	۷	۰	۲
پیپراسیلین/تازوباکتام	۳۰	۱	۵	۸	۱	۰
ایمی‌پنم	۳۱	۰	۵	۹	۰	۰
پلی‌میکسین B	۴	۰	۳۲	۳	۰	۶

بحث

به طور کلی، عفونت‌های مقاوم به درمان ناشی از Acinetobacter baumannii در بخش مراقبت‌های ویژه رو به افزایش می‌باشد که این امر، به دلایلی همچون بستری طولانی مدت در بیمارستان، نقص ایمنی، اعمال جراحی، تماس طولانی با بیماران کلونیزه شده، سوختگی، کهولت سن، مصرف زیاد عوامل آنتی‌باکتریال وسیع‌الطیف و وجود وسایل تهاجمی مثل کاتتر اتفاق می‌افتد که زمینه‌ساز ایجاد عفونت بیشتر و کلونیزه شدن پاتوژن‌ها در بیماران بستری در این بخش می‌شود و در نهایت، شکست درمان‌های آنتی‌بیوتیکی متداول را در پی دارد (۱۹-۱۷، ۱۰). در مطالعه‌ی حاضر، نمونه‌های جمع‌آوری شده از بخش مراقبت‌های ویژه مورد بررسی قرار گرفت که نتایج مطالعه نشان داد که ایزوله‌های موجود در ICU نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مقاومت بالایی را نشان دادند که همسو با نتایج سایر مطالعات بود (۲۰).

بیشترین فراوانی Acinetobacter baumannii در نمونه‌های مورد بررسی مربوط به نمونه‌های خون است که از این نظر، با نتایج سایر مطالعات سازگار بود (۲۱). آمینوگلیکوزیدها از جمله آنتی‌بیوتیک‌های پرکاربرد در درمان انواع عفونت‌های باکتریال محسوب می‌شوند، اما در مطالعات اخیر، میزان بالایی از مقاومت به این دسته‌ی دارویی به خصوص در Acinetobacter baumannii گزارش شده است. در مطالعه‌ی حاضر، حدود ۷۵ درصد از ایزوله‌های Acinetobacter baumannii مورد بررسی، دارای مقاومت سطح بالایی به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی بودند. در مطالعه‌ی حاضر، مقاومت به آمینوگلیکوزیدها برای آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین ۸۴/۵ درصد، توبرامایسین ۷۹/۳ درصد و جنتامایسین ۷۷/۶ درصد مشاهده گردید. در مطالعه‌ی علی‌اکبرزاده و همکاران، میزان مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در Acinetobacter در برابر کانامایسین، جنتامایسین و توبرامایسین به ترتیب ۹۴، ۸۶ و ۶۳ درصد گزارش شد (۲۲). میزان مقاومت نسبت به کانامایسین و جنتامایسین همسو با این مطالعه و سایر مطالعات می‌باشد، اما میزان مقاومت نسبت به توبرامایسین در مطالعه‌ی حاضر نسبت به این پژوهش و اکثر پژوهش‌های دیگر که در کشور انجام گرفته است، بالاتر بود (۲۵-۲۳).

در پژوهش‌های مختلف انجام گرفته، بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های Acinetobacter baumannii نسبت به پلی‌میکسین B گزارش شده است. در این مطالعات، میزان مقاومت به پلی‌میکسین B بین ۱۶-۳/۱۳ درصد تعیین شده است که با میزان مقاومت گزارش شده نسبت به پلی‌میکسین B (۱۲/۱ درصد) در مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت (۲۶، ۲۳-۲۲). در نتیجه، می‌توان گفت در حال حاضر، پلی‌میکسین B همچنان دارویی مؤثر در درمان عفونت‌های این باکتری محسوب می‌شود که این امر، نیازمند توجه و دقت بیشتری در زمینه‌ی تجویز آن را خاطرنشان می‌کند. در این مطالعه، فراوانی ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در نمونه‌های Acinetobacter baumannii، برای ژن‌های aphA6 و aadB ۶۲/۱ و ۱۵/۵ درصد به دست آمد.

در اکثر مطالعات انجام گرفته، بیشترین شیوع در ژن‌های آمینوگلیکوزید در Acinetobacter baumannii در ژن aphA6 گزارش شده است که نتایج مطالعه‌ی حاضر با آن‌ها همخوانی دارد (۲۷، ۲۱، ۷). در این مطالعه، به ترتیب ۸۰/۰ درصد و ۷۳/۴ درصد از ایزوله‌های Acinetobacter دارای ژن aphA6، به جنتامایسین و کانامایسین مقاوم بودند. همچنین، ۷۰/۵ درصد از انواع Acinetobacter دارای aphA6 نسبت به تیکارسیلین مقاوت نشان دادند. حدود ۶۶ درصد از ایزوله‌های مورد بررسی دارای ژن aphA6 نسبت به سیپروفلوکساسین مقاومت داشتند. در ۵ نمونه (۸/۶ درصد) از ایزوله‌های مورد بررسی هر دو ژن aphA6 و aadB شناسایی شد.

در پژوهش فراهانی خلت‌آبادی و همکاران، فراوانی Acinetobacter baumannii دارای هر دو ژن aphA6 و aadB، ۵۶/۱ درصد گزارش شد که نسبت به نتایج مطالعه‌ی حاضر شیوع بیشتری داشت (۲۷)، اما علی‌اکبرزاده و همکاران این شیوع را ۹/۷ درصد به دست آوردند که با یافته‌های این مطالعه هم‌خوانی داشت (۲۲). نتایج این پژوهش نشان داد که بیش از ۸۰ درصد از ایزوله‌های مورد بررسی، نسبت به آمینوگلیکوزیدها مقاومت داشتند. همچنین، نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی نیز مقاومت بالایی مشاهده شد. همچنین، میزان شیوع بالایی در ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها مشاهده شد که این امر، می‌تواند نشان دهنده‌ی استفاده‌ی نادرست و غیر منطقی از این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های باکتریال باشد. از طرفی، ۸۷/۹ درصد از ایزوله‌ها در برابر پلی‌میکسین B حساسیت نشان دادند. این امر، حاکی از این است که می‌توان این آنتی‌بیوتیک را همچنان از جمله داروهای مؤثر در درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری محسوب کرد. در نتیجه، لازم است در امر تجویز و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های باکتریایی توجه بیشتری معطوف گردد.

تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر، حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه با شماره‌ی ثبت ۹۴۳۵۳ بود که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد. بدین وسیله، از همکاران محترم آزمایشگاه مرکز تحقیقات و همچنین، معاونت پژوهش و فن‌آوری این دانشگاه سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Ghajavand H, Havaei A, Nasr Esfahani B, Fazeli H, Moghim S. Frequency of multi drug resistance acinetobacter baumannii isolates in intensive care units (ICU) of Isfahan hospitals, Iran, via molecular method and their antimicrobial resistance patterns. J Isfahan Med Sch 2014; 32(295): 1175-85. [In Persian].
2. Babay HA, Kambal AM, Al-Anazy AR, Saidu AB, Aziz S. Acinetobacter blood stream infection in a teaching hospital- Riyadh, Saudi Arabia. Kuwait Med J 2003; 35(3): 196-201.
3. Bendinelli M, Friedman H, Bergogne-Bérézin E. Acinetobacter biology and pathogenesis. New York, NY: Springer; 2008. p. 1, 14, 120-4.
4. Yousefian R, Karbasizade V, Moghim S. Identification and frequency of colistin-resistant Acintobacter baumanii in clinical isolates using polymerase chain reaction. J Isfahan Med Sch 2014; 32(301): 1466-74. [In Persian].
5. Valentine SC, Contreras D, Tan S, Real LJ, Chu S, Xu HH. Phenotypic and molecular characterization of Acinetobacter baumannii clinical isolates from nosocomial outbreaks in Los Angeles County, California. J Clin Microbiol 2008; 46(8): 2499-507.
6. Chiu CH, Lee HY, Tseng LY, Chen CL, Chia JH, Su LH, et al. Mechanisms of resistance to ciprofloxacin, ampicillin/sulbactam and imipenem in Acinetobacter baumannii clinical isolates in Taiwan. Int J Antimicrob Agents 2010; 35(4): 382-6.
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. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(12): 4114-23.
8. Jafari R, Karbasizade V, Moghim Sh. Frequency and resistance patterns of bacterial isolates from burn wounds infections in Isfahan, Iran. J Isfahan Med Sch 2013; 31(246): 1134-40. [In Persian].
9. Nemec A. Multidrug resistant Acinetobacter baumannii. Klin Mikrobiol Infekc Lek 2008; 14(5): 162-7. [In Czech].
10. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of Acinetobacter baumannii in health care facilities. Clin Infect Dis 2006; 42(5): 692-9.
11. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect 2006; 12(9): 826-36.
12. Khaledi A, Bahador A, Mansoori NM, Ghazali Bina M, Ghazvini K. Determination of antimicrobial resistance pattern of Acinetobacter baumanii isolated from patients in intensive care unit (ICU). Med J Mashad Univ Med Sci 2015; 58(7): 376-80.
13. 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. J Med Microbiol 2004; 53(Pt 12): 1233-40.
14. Aliakbarzade K, Farajnia S, Kariminik A. Prevalence of aminoglycoside resistance genes in acinetobacter baumannii isolates from patients In Tabriz city. Journal of Microbial World 2013; 3(16): 219-27. [In Persian].
15. Turton JF, Gabriel SN, Valderrey C, Kaufmann ME, Pitt TL. Use of sequence-based typing and multiplex PCR to identify clonal lineages of outbreak strains of Acinetobacter baumannii. Clin Microbiol Infect 2007; 13(8): 807-15.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; 20th informational supplement. CLSI/NCCLS M100-S20. Wayne, PA: CLSI; 2010.
17. Gutierrez O, Juan C, Cercenado E, Navarro F, Bouza E, Coll P, et al. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in Pseudomonas aeruginosa isolates from Spanish hospitals. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(12): 4329-35.
18. Fazeli H, Vakili B, Khorvash F, Shoaei P, Kariminik A, Yaran M, et al. Identification of mutation in gyrA gene obtained from quinolone resistant clinical isolates of Acinetobacter baumannii. Journal of Microbial World 2014; 7(2): 109-17. [In Persian].
19. Mohammadtaheri Z, Pourpaki M, Mohammadi F, Namdar R, Masjedi MR. Surveillance of antimicrobial susceptibility among bacterial isolates from intensive care unit patients of a tertiary-care university hospital in Iran: 2006-2009. Chemotherapy 2010; 56(6): 478-84.
20. Shakibaie MR, Adeli S, Salehi MH. Antibiotic resistance patterns and extended-spectrum beta-lactamase production among Acinetobacter spp. isolated from an intensive care Unit of a hospital in Kerman, Iran. Antimicrob Resist Infect Control 2012; 1(1): 1.
21. Moniri R, Farahani RK, Shajari G, Shirazi MN, Ghasemi A. Molecular epidemiology of aminoglycosides resistance in acinetobacter spp. With emergence of multidrug-resistant strains. Iran J Public Health 2010; 39(2): 63-8.
22. Aliakbarzade K, Farajnia S, Karimi NA, Zarei F, Tanomand A. Prevalence of Aminoglycoside Resistance Genes in Acinetobacter baumannii Isolates. Jundishapur J Microbiol 2014; 7(10): e11924.
23. Khodadadi S, Kiani AH, Pournajafand A, Ardebil A. High prevalence of aminoglycoside resistance among Acinetobacter baumannii isolated from a teaching hospital in Tehran, Iran. International Journal of Development Research 2014; 4(11): 2498-502.
24. Owlia P, Azimi L, Gholami A, Asghari B, Lari AR. ESBL- and MBL-mediated resistance in Acinetobacter baumannii: a global threat to burn patients. Infez Med 2012; 20(3): 182-7.
25. Kiani S, Momtaz H, Serajian AA, Tajbakhsh E. Detection of integrons in Acinetobacter baumannii strains isolated from the nosocomial infections of Ahvaz city and their relation with the resistance pattern. International Journal of Medical Laboratory 2016; 3(1): 50-63.

26. Lin T, Tang CG, Li QH, Ji J, Ge HY, Zhang XY, et al. Identification of aac(2')-I type b aminoglycoside-modifying enzyme genes in resistant Acinetobacter baumannii. Genet Mol Res 2015; 14(1): 1828-35.
27. 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 2009; 12(4): 61-7. [In Persian].

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 34, No. 407, 3rd Week, January 2017

Received: 13.09.2016

Accepted: 07.10.2016

Prevalence Study of Aminoglycoside-Resistance Genes in Acinetobacter Baumannii Isolated from the Patients in Intensive Care Unit

Fatemeh Amini[1], Hassan Ali Karimpour[2], Siavash Vaziri[3], Mehdi Ghaderi[4], Saeed Mohammadi[2], Mohsen Azizi[1]

Original Article

Abstract

Background: Acinetobacter baumanniii is a highly antibiotic-resistant nosocomial opportunistic pathogen possess. This study aimed to assess the antibiotic-resistance pattern and detect the molecular frequency of aphA6 and aadB genes in Acinetobacter baumannii isolated from patients in intensive care unit (ICU).

Methods: In this cross-sectional study, 58 Acinetobacter baumannii isolates collected from ICU patients in Imam Reza hospital, Kermanshah, Iran, were confirmed using standard bacteriological tests. Disc diffusion method was deployed for screening resistant isolates. The prevalence of aphA6 and aadB genes was assessed using polymerase chain reaction (PCR) method with specific primers.

Findings: The highest antibiotic resistance rates were seen in ticarcilin (87.9%) and ceftazidime (86.2%) and the lowest was of polymyxin B (12.1%). Of 58 Acinetobacter isolates, 36 (62.1%) and 9 (15.5%) harbored aphA6 and aadB genes, respectively. In addition, 5 isolates (8.6%) harbored both genes and 18 isolates (31.3%) were negative for any of those genes.

Conclusion: 80% of Acinetobacter isolates showed resistance to aminoglycoside antibiotics. Considering the high rates of antibiotic resistance to this category and other investigated antibiotics in this study, it seems necessary to precise on the use of antibiotics such as polymyxin B to treat the infections caused by this pathogen.

Keywords: Acinetobacter baumannii, Antibiotic resistance, Aminoglycosides

Citation: Amini F, Karimpour HA, Vaziri S, Ghaderi M, Mohamadi S, Azizi M. **Prevalence Study of Aminoglycoside-Resistance Genes in Acinetobacter Baumannii Isolated from the Patients in Intensive Care Unit.** J Isfahan Med Sch 2017; 34(407): 1381-8.

1- Research Assistant, Department of Microbiology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
2- Assistant Professor, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
3- Associate Professor, Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4- Department of Microbiology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
Corresponding Author: Mohsen Azizi, Email: m.azizi9889@yahoo.com