Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 11, Number 3 (July - August)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Farname Inc.

Molecular Detection of *ISAba2* among Carbapenem Hydrolyzing Class D β-Lactamasese *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Patients in Tehran Hospitals

Mina Owrang[1], Gita Eslami[2], Fatemeh Fallah[2], Shiva Irani[1], Mohammad Rahbar[3]

1. Department of Biology, School of Basic Sciences, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Microbiology, Medical school, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran
3. Department of Microbiology, Reference Health Laboratories Research Centre, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

Downloaded from ijmm.ir at 5:25 +0330 on Wednesday November 21st 2018

Article Information

Article history:
Received: 2017/02/20
Accepted: 2017/05/08
Available online: 2017/08/08

Article Subject:
Medical Bacteriology

IJMM 2017; 11(3): 19-26

Corresponding author:

Dr. Gita Eslami

Department of Microbiology, Medical school, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

Tel: 0989122039725

Email:
g_eslami@yahoo.com

Abstract

Background and Aims: *Acinetobacter baumannii* is an opportunistic pathogen that has acquired a high rate of antibiotic resistance. Identification of the major elements increasing the expression of resistance genes while having a role in their transmission, can help us control the *A. baumannii* infections. This study aimed to determine the prevalence of ISAba2 in *A. baumannii* strains which include group D beta-lactamase genes among hospitalized patients.

Materials and Methods: From August 2014 to April 2015, 105 *A. baumannii* strains were collected from different clinical samples of patients in 5 hospitals in Tehran. The confirmation of strains was done by phenotypical tests and existence of blaOXA-51-like gene. Antibiotic susceptibility pattern of the isolates were performed by Disc Diffusion Test (DDT) and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) according to the CLSI. ESBL producing strains were recognized with Combined Disc Diffusion Test (CDDT) while the presence of *OXA* genes and *ISAba1*and *ISAba2* were analyzed using PCR reactions.

Results: The result of this study showed that the highest and lowest rates of antibiotic resistance belonged to cefotaxim (100%) and colistin (99.05%), respectively. A total of 55 isolates (54.5%) were capable of producing ESBL. Unlike the $bla_{OXA\text{-}58\text{-}like}$ gene, which was not found in any of the isolates, $bla_{OXA\text{-}51\text{-}like\text{-}}$ was present among all the isolates.. Prevalence of $bla_{OXA\text{-}23\text{-}like}$ and $bla_{OXA\text{-}24\text{-}like}$ genes were 103 (98.09%) and 68 (64.76%), respectively and the frequency of *ISAba1* and *ISAba2* were 105 (100%) and 97 (92.36%), respectively.

Conclusions: The existence of additional elements as effective factors, can increase the expression of resistance genes and, therefore, help them to be mobile and transmitted between bacteria. Determination of these elements is, therefore, necessary for controlling infections.

KeyWords: *Acinetobacter baumannii*, Antibiotic resistance, Carbapenems, CHDLs, *ISAba2*

Copyright © 2017 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Owrang M, Eslami G, Fallah F, Irani Sh, Rahbar M. Molecular Detection of *ISAba2* among Carbapenem Hydrolyzing Class D β-Lactamasese *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Patients in Tehran Hospitals. Iran J Med Microbiol. 2017; 11 (3): 19-26

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۱ – شماره ۳ – مرداد و شهریور ۱۳۹۶

Journal homepage: www.ijmm.ir

Farname Inc.

Downloaded from ijmm.ir at 5:25 +0330 on Wednesday November 21st 2018

تشخیص مولکولی *ISAba2* در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* دارای بتالاکتامازهای گروه D هیدرولیز کننده کارباپنم جداشده از بیماران بستری در بیمارستان‌های تهران

مینا اورنگ[۱]، گیتا اسلامی[۲]، فاطمه فلاح[۲]، شیوا ایرانی[۱]، محمد رهبر[۳]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. بخش میکروب‌شناسی، آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۰۲

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۱۸

انتشار آنلاین: ۱۳۹۶/۰۵/۱۷

موضوع:

باکتری‌شناسی پزشکی

IJMM 1396; 11(2): 19-26

نویسنده مسئول:

دکتر گیتا اسلامی

گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تلفن: ۰۹۸۹۱۲۲۰۳۹۷۲۵

پست الکترونیک:

g_eslami@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: *اسینتوباکتر بومانی*، پاتوژنی فرصت‌طلب و بسیار مقاوم نسبت به پادزیست‌ها می‌باشد. شناسایی عناصری که سبب افزایش بیان ژن‌های مقاومت و انتقال آن‌ها در بین باکتری‌ها می‌شوند، می‌تواند موجب کنترل انتشار عفونت بشود، لذا هدف از انجام این تحقیق، تعیین فراوانی *ISAba2* در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* دارای ژن‌های بتالاکتاماز گروه D در بیماران بستری می‌باشد.

مواد و روش کار: از مرداد ۱۳۹۳ تا فروردین ۱۳۹٤، ۱۰۵ سویه *اسینتوباکتر بومانی* از نمونه‌های کلینیکی بیماران در ۵ بیمارستان تهران، جمع‌آوری گردید. تأیید گونه با تست‌های فنوتایپی و حضور ژن $bla_{OXA-51-like}$ انجام شد. الگوی حساسیت پادزیستی ایزوله‌ها، به روش (Disc Diffusion Test) DDT و MIC (Minimum Inhibitory Concentration) با استفاده از دستورالعمل CLSI انجام شد. سویه‌های تولیدکننده ESBL با روش CDDT (Combined Disc Diffusion Test) شناسایی شدند و برای تأیید حضور ژن‌های *OXA* و *ISAba1* و *ISAba2*، روش PCR انجام شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که بالاترین میزان مقاومت و حساسیت به ترتیب نسبت به پادزیست‌های سفوتاکسیم (۱۰۰٪) و کلیستین (۹۹/۰۵٪) بوده است. تعداد ۵۵ (۵٤/۵٪) سویه مولد *ESBL* بودند. ژن $bla_{OXA-51-like}$ در تمام نمونه‌ها وجود داشت، ولی ژن $bla_{OXA-58-like}$ در هیچیک از نمونه‌ها یافت نشد. فراوانی ژن‌های $bla_{OXA-23-like}$ و $bla_{OXA-24-like}$ به ترتیب ۱۰۳ (۹۸/۰۹٪) و ٦۸ (٦٤/۷٦٪) و فراوانی توالی‌های الحاقی *ISAba1* و *ISAba2* به ترتیب برابر با ۱۰۵ (۱۰۰٪) و ۹۷ (۹۲/۳٦٪) بود.

نتیجه‌گیری: وجود عناصر الحاقی، به‌عنوان عوامل مؤثر در افزایش بیان ژن‌های مقاومت و انتقال آن‌ها در *اسینتوباکتر بومانی*، دارای شیوع بالایی است. بنابراین شناسایی این عوامل گامی مؤثر در کنترل عفونت می‌باشد.

کلمات کلیدی: *اسینتوباکتر بومانی*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، کارباپنم، CHDLs, *ISAba2*

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

بتا لاکتامازهای کلاس D هیدرولیز کننده کارباپنم ها (CHDLs)، یکی از عوامل مهم مکانیسم‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در بین پاتوژن های گرم منفی می‌باشند (۱). افزایش جهانی میزان مقاومت به کارباپنم ها موجب گشته است که استفاده از کارباپنم ها، که به همراه آنتی‌بیوتیک کلیستین، به‌عنوان آخرین خط درمانی عفونت‌های ناشی از *اسینتوباکتر بومانی* محسوب می‌گردند، با مشکل مواجه شود (۲). *اسینتوباکتر بومانی*، پاتوژنی فرصت‌طلب می‌باشد که به‌صورت کوکوباسیل های گرم منفی، هوازی، غیرتخمیری و اکسیداز منفی بوده و در سال‌های اخیر، به‌عنوان شایع‌ترین عامل عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به درمان، موجب عفونت‌های مختلفی نظیر: پنومونی وابسته به ونتیلاتور (VAP)، عفونت دستگاه ادراری (UTI)، عفونت زخم، باکتریمی، مننژیت و ... به‌ویژه در بیماران بستری در بخش ICU و بیمارانی که به مدت طولانی در بیمارستان بستری

Downloaded from ijmm.ir at 5:25 +0330 on Wednesday November 21st 2018

بوده‌اند، می‌شود (۳). این باکتری که به‌سرعت از نوع MDR به XDR (Extensively Drug- Resistant) تبدیل‌شده و علاوه بر مقاومت به ۳ کلاس پادزیستی بتالاکتام ها، فلوروکینولون ها و آمینوگلیکوزیدها، به کارباپنم ها نیز مقاوم می‌شوند، با افزایش نرخ مرگ‌ومیر، نگرانی جدی را در سرتاسر جهان ایجاد می‌نمایند (۴). کارباپنمازهایی که در گروه D بتالاکتاماز قرار دارند، به‌عنوان اکساسیلیناز OXA-Type– β– lactamase نیز نامیده می‌شوند، این آنزیم‌ها فعالیت هیدرولیز کنندگی‌شان بر روی کارباپنم ها، کمتر از متالوبتالاکتامازها (MBLs) می‌باشد ولی درصورتی‌که این گروه از ژن‌های OXA، در مجاورت توالی‌های الحاقی که به Insertion sequence (IS) معروف‌اند، قرار گیرند، تحت تأثیر پروموتری قوی آن‌ها می‌توانند بیانشان را افزایش دهند (۵،۶). مهم‌ترین گروه‌های آنزیمی در این خانواده شامل: گروه آنزیمی OXA-51 (که ژن آن بر روی کروموزوم اصلی باکتری قرار دارد)، گروه OXA-24، OXA-23و OXA-58 می‌باشند که ژن‌های سه گروه آخر اغلب بر روی پلاسمید قرار داشته و به‌راحتی قادر به انتقال در بین باکتری‌ها هستند. انتقال افقی ژن‌ها توسط عناصر ژنتیکی متحرکی از قبیل پلاسمیدها- ترانسپوزون ها- اینتگرون ها و فاژها صورت می‌گیرد و دلیل انتشار سریع مقاومت پادزیستی در بین باکتری‌ها به خاطر حضور این ژن‌های جانبی (Accessory genes) می‌باشد (۶). توالی‌های الحاقی یکی از انواع ترانسپوزون ها بوده و به‌صورت توالی‌های کوتاهی از DNA می‌باشند که به‌عنوان یک عنصر قابل‌انتقال ساده عمل می‌نمایند و علاوه بر اینکه سبب می‌شوند تا با قرار گرفتن در کنار ژن‌های مقاومت باکتریایی نظیر گروه OXA باعث انتقالشان شوند بلکه دارای نقش بسیار اختصاصی در ارتباط با افزایش بیان ژن‌های OXA نیز می‌باشند (۶-۴). ازآنجایی‌که توالی‌های الحاقی (IS) نقش بسیار مهمی در انتشار مقاومت و افزایش بیان ژن‌های بتالاکتامازی از قبیل ژن‌های گروه OXA دارند، لذا هدف از انجام این تحقیق، بررسی فراوانی این عناصر ژنتیکی در بین سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* پس از شناسایی میزان مقاومت آن‌ها نسبت به پادزیست‌های مختلف و درصد شیوع ژن‌های OXA می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

در این مطالعه، ۱۰۵ سویه *اسینتوباکتر بومانی* از تاریخ مرداد ۱۳۹۳ تا فروردین ۱۳۹۴ از نمونه‌های بالینی متفاوتی مانند خون، ادرار، تراشه، خلط و زخم بیماران بستری در ۵ بیمارستان تهران شامل میلاد، مطهری، لقمان، طالقانی و مفید جمع‌آوری گردید.

شناسایی باکتری

سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* جمع‌آوری‌شده، در ابتدا با انجام تست‌های بیوشیمیایی استاندارد از قبیل رشد در ۴۲ °C تست اکسیداز، TSI، OF شناسایی گردیده و با انجام آزمون PCR و ردیابی ژن $bla_{OXA-51-like}$ که حضور آن به همراه انجام تست‌های بیوشیمیایی، تأییدکننده سویه *اسینتوباکتر بومانی* می‌باشد، مورد تأیید قرار گرفتند. ایزوله‌های باکتریایی سپس جهت انجام آزمون‌های بعدی در محیط BHI Broth (Merck, Germany) به همراه گلیسرول ۱۸٪ کشت داده‌شده و در دمای ۷۰- °C نگهداری شدند.

تست تعیین حساسیت پادزیستی

تعیین حساسیت پادزیستی نمونه‌های جمع‌آوری‌شده با آزمون آنتی بیوگرام و با روش دیسک دیفیوژن، بر روی محیط مولر هینتون آگار (Merck, Germany) و بر طبق دستورالعمل CLSI 2015 انجام گردید. دیسک‌های مورداستفاده شامل پادزیست‌های: آمیکاسین (AMK,30µg)، جنتامایسین (GEN,10µg)، سفتازیدیم (CAZ,30µg)، سفی پیم (FEP,30µg)، سفوتاکسیم (CTX,30µg)، سفتریاکسون (CRO,30µg)، سیپروفلوکساسین (CIP,5µg)، ایمی پنم (IMP,10µg)، مروپنم (MEM,10µg)، پیپراسیلین (PIP,100µg)، پیپراسیلین/تازوباکتام (TZP,100+10µg)، تایجی سایکلین (TGC,15µg)، ماینوسایکلین (MCN,30µg)، و تری متوپریم/سولفامتوکسازول (SXT,1.25+23.75µg) بودند. تمام آنتی‌بیوتیک‌ها از شرکت ROSCO (Denmark) خریداری شدند. سوسپانسیون میکربی استاندارد با مقایسه لوله نیم مک فارلند تهیه و به روش کشت چمنی کشت داده شد و پس از گذاشتن دیسک‌های مذکور به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای °C ۳۵ انکوبه شدند. جهت کنترل کیفی در این آزمون از سویه *E. coli* ATCC 25922 استفاده گردید. همچنین جهت تعیین حداقل غلظت مهارکننده یا MIC (Minimum Inhibitory Concentration) نسبت به پادزیست کلیستین از روش E-test (India Himedia) بر اساس دستورالعمل CLSI (2015) استفاده شد.

Downloaded from ijmm.ir at 5:25 +0330 on Wednesday November 21st 2018

شناسایی فنوتیپی سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBL)

تست بررسی سویه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف به‌صورت تست دیسک دیفیوژن ترکیبی با استفاده از دیسک‌های سفتازیدیم و سفتازیدیم+ کلاولانیک اسید انجام شد و افزایش قطر هاله عدم رشد بیشتر و یا مساوی ۵ mm در اطراف دیسک سفتازیدیم+کلاولانیک اسید در مقایسه با سفتازیدیم به‌تنهایی، نشان‌دهنده تولید ESBL می‌باشد.

استخراج DNA

استخراج DNA سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی*، با استفاده از کیت (Bioneer, Korea) و پس از یک دوره انکوباسیون سویه‌های موردنظر در محیط LB-Broth (Luria- Bertani) به مدت یک‌شب انجام گردید.

واکنش PCR

جهت شناسایی ژن‌های $bla_{OXA-58-like}$، $bla_{OXA-23-like}$، $bla_{OXA-24-like}$ و توالی‌های مربوط به عناصر الحاقی *ISAba1* و *ISAba2*، واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد که هر واکنش شامل ۱۲/۵ میکرولیتر از Master Mix تولید شرکت (Ampliqon, Denmark)، ۰/۵ میکرولیتر از پرایمر Forward (۱۰ پیکو مول)، ۰/۵میکرولیتر از پرایمر Reverse (۱۰ پیکومول)، (به سفارش شرکت تکاپو زیست و ساخت شرکت بایونیر کره)، ۱میکرولیتر از DNA و ۱۰/۵ میکرولیتر آب مقطر بوده است. توالی پرایمرها با اطلاعات توالی نوکلئوتیدی موجود در Gene Bank (سیستم Blast) موردبررسی و تأیید قرار گرفت که مشخصات آن در مطالعات قبلی آورده شده است (۱۸). شرایط انجام واکنش PCR نیز بر طبق رفرنس معتبر انجام‌شده است. (۱۸). محصول واکنش PCR جهت تعیین توالی به شرکت تکاپو زیست و سپس بایونیر کره فرستاده شد.

انجام الکتروفورز

پس از انجام PCR، محصولات آن بر روی ژل آگارز ۱/۵٪، حاوی ماده Red safe (INTRON,Korea) به همراه بافر TBE (Tris-borate EDTA) به مدت ۶۰ دقیقه و با ولتاژ ۱۰۰v الکتروفورز شده و سپس ژل را در دستگاه UV Gel Documentation (Upland,USA) قرار داده و با استفاده از طول‌موج ۲۸۰ نانومتر، باندهای موردنظر در کنار مارکر مولکولی و کنترل‌های مثبت و منفی موردبررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۰۵ نمونه کلینیکی *اسینتوباکتر بومانی* از ۵ بیمارستان جمع‌آوری‌شده و موردبررسی و مطالعه قرار گرفتند. بیشترین نمونه مربوط به بیمارستان میلاد (۴۶٪) و کمترین آن مربوط به بیمارستان طالقانی (۳٪) بوده است. از کل بیماران موردمطالعه ۵۱ سویه (۴۸/۶) مؤنث و ۵۴ سویه (۵۱/۴) مذکر بوده‌اند. ۶۲/۴٪ نمونه‌ها مربوط به لوله تراشه، ۱۷/۳٪ مربوط به ادرار،۷/۴٪ مربوط به خون، ۱۱/۸٪ مربوط به زخم و ۱/۱٪ از سایر موارد بوده‌اند. بالاترین میزان مقاومت به روش DDT، نسبت به پادزیست سفوتاکسیم (۱۰۰٪) و کمترین آن به ایمی پنم (۵۶/۱۹٪) بوده است. مقاومت نسبت به پادزیست تایجی سایکلین نیز علیرغم انتظار، بالا بوده است (۹۵/۲۳٪). مقاومت نسبت به تمام خانواده‌های پادزیستی بالای ۹۰٪ بوده که نشان‌دهنده XDR بودن تمام نمونه‌هاست (جدول ۱). نتایج آزمون E-Test برای کلیستین نشان داد که تنها یک نمونه (۰/۹۵٪) نسبت به این پادزیست مقاومت نشان داده است و میزان MIC آن برابر ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است.

نتایج سویه‌های تولیدکننده ESBL

با استفاده از روش دیسک دیفیوژن ترکیبی (CDDT)، مشاهده گردید که از بین ۱۰۱ سویه مقاوم به سفتازیدیم، ۵۵ سویه (۵۴/۵٪) تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف بوده‌اند.

نتایج حاصل از واکنشPCR ژن‌های bla_{OXA-51} و bla_{OXA-23} و bla_{OXA-24} و bla_{OXA-58} و توالی‌های الحاقی *ISAba1* و *ISAba2*

از میان ۱۰۵ سویه موردمطالعه، ۱۰۳ (۹۸/۰۹٪) سویه دارای ژن bla_{OXA-23} و ۶۸ (۶۴/۷۶٪) سویه دارای ژن bla_{OXA-24} بودند. ژن bla_{OXA-51} در تمام سویه‌ها شناسایی گردید، ولی bla_{OXA-58} در هیچ‌کدام از سویه‌ها وجود نداشت. توالی الحاقی *ISAba1* در تمامی نمونه‌ها وجود داشت و میزان فراوانی ژن *ISAba2*، ۹۷ مورد (۹۲/۳۶٪) بوده است.

Downloaded from ijmm.ir at 5:25 +0330 on Wednesday November 21st 2018

جدول ۱: نتایج الگوی حساسیت پادزیستی نمونه‌های موردمطالعه

Antibiotics	Concentrations	Sensitivity	Resistant
Minocycline	۳۰ µg	۷ (٪۶/۶۶)	۹ (٪۹۳/۳۳)
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	۱/۲۵ µg + ۲۳/۷۵ µg	۸ (٪۷/۶۱)	۹۷ (٪۹۲/۳۸)
Piperacillin	۱۰۰ µg	۲ (٪۱/۹)	۱۰۳ (٪۹۸/۰۹)
Ceftazidime	۳۰ µg	۴ (٪۳/۸)	۱۰۱ (٪۹۶/۱۹)
Cefotaxime	۳۰ µg	۰ (٪۰)	۱۰۵ (٪۱۰۰)
Gentamicin	۱۰ µg	۴ (٪۳/۸)	۱۰۱ (٪۹۶/۱۹)
Ciprofloxacin	۵ µg	۱ (٪۰/۹۵)	۱۰۴ (٪۹۹/۰۴)
Amikacin	۳۰ µg	۷ (٪۶/۶۶)	۹۸ (٪۹۳/۳۳)
Imipenem	۱۵ µg	۴۶ (٪۴۳/۸)	۵۹ (٪۵۶/۱۹)
Tigecycline	۱۰ µg	۵ (٪۴/۷۶)	۱۰۰ (٪۹۵/۲۳)
Cefepime	۳۰ µg	۱ (٪۰/۹۵)	۱۰۴ (٪۹۹/۰۴)
Ceftriaxone	۳۰ µg	۱ (٪۰/۹۵)	۱۰۴ (٪۹۹/۰۴)
Meropenem	۱۰ µg	۲ (٪۱/۹)	۱۰۳ (٪۹۸/۰۹)
Piperacillin/tazobactam	۱۰۰ µg + ۱۰ µg	۴ (٪۳/۸)	۱۰۱ (٪۹۶/۱۹)

بحث

اسینتوباکتر بومانی، پاتوژنی فرصت‌طلب می‌باشد که در سال‌های اخیر به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی شناخته‌شده و در بخش‌هایی نظیر ICU و در بیمارستان‌های سوختگی عفونت‌های منجر به فوت را ایجاد می‌نماید (۳). بیماران دارای ضعف سیستم ایمنی که به علت طولانی شدن مدت بستری، به عفونت بیمارستانی و به‌خصوص به پنومونی وابسته به ونتیلاتور مبتلا می‌گردند، شانس کمی برای درمان پادزیستی عفونت‌های ایجادشده با این باکتری دارند (۷). قابلیت بقاء این باکتری در محیط بیمارستانی، به علت مقاومت فوق‌العاده آن در برابر ضدعفونی‌کننده‌ها و انواع مختلف خانواده‌های پادزیستی و درنتیجه داشتن مکانیسم‌هایی نظیر: کاهش تراوایی غشاء خارجی، تغییر سایت هدف، تولید آنزیم‌های غیرفعال کننده داروها و افزایش بیان پمپ‌های ترشحی چندگانه می‌باشد (۷،۸). در مطالعات گذشته، پادزیست‌هایی نظیر آمیکاسین، پلی میکسین، تایجی سایکلین، مینوسایکلین، توبرامایسین، پیپراسیلین/تازوباکتام، کارباپنم ها (ایمی پنم، مروپنم، دوری پنم) و کلیستین جهت درمان عفونت‌های ناشی از *اسینتوباکتر بومانی به کار* می‌رفتند (۹). امروزه، حساسیت این باکتری نسبت به پادزیست‌های فوق بشدت کاهش پیدا نموده است به‌طوری‌که در تحقیق حاضر تنها پادزیست مؤثر بر سویه‌ها، کلیستین (٪۹۹/۰۵) بوده و حساسیت سویه‌ها نسبت به تایجی سایکلین، مینوسایکلین، آمیکاسین، پیپراسیلین/تازوباکتام، ایمی پنم و مروپنم به ترتیب برابر با: ٪۴/۷۶، ٪۶/۶۶، ٪۶/۶۶، ٪۳/۸، ٪۵۶/۱۹ و ٪۱/۹ تعیین‌شده است. در مطالعه‌ای Peerayeh و همکاران در ۲۰۱۴، حساسیت به کلیستین را در تهران ٪۱۰۰ گزارش نمودند (۱۰). همچنین Moammadi و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴ در همدان، میزان حساسیت به کلیستین را ٪۹۹ گزارش نمودند (۱۱). همچنین نتیجه مشابهی (٪۹۸/۲) توسط Goudarzi و همکاران در سال ۲۰۱۵ در تهران به دست آمد (۱۲)، ولی نتایج بررسی Bahador و همکاران در همین سال در تهران (٪۸۵/۸) و Vakili و همکاران در اصفهان (٪۸۸/۴) حاکی از افزایش مقاومت این باکتری می‌باشد که این می‌تواند به علت شیوع کلون جدیدی از این باکتری باشد که در حال کسب مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک بوده و موجب بروز نگرانی جدی در درمان این عفونت گشته است (۱۳،۱۴). آنتی‌بیوتیک کلیستین بر اساس دستورالعمل CLSI (2015) به روش MIC باید بررسی گردد و در این تحقیق نیز با روش E-Test، میزان حساسیت به این آنتی‌بیوتیک بررسی‌شده است. میزان حساسیت این سویه‌ها به ماینوسایکلین که از خانواده تتراسایکلین ها می‌باشد، ٪۶/۶۶ بوده است. پادزیست دیگری که ازنظر ساختمان مولکولی مشابه با ماینوسایکلین بوده ولی با تغییرات جزیی که

Downloaded from ijmm.ir at 5:25 +0330 on Wednesday November 21st 2018

پیدا نموده تبدیل به یک پادزیست وسیع الطیف شده است، تایجی سایکلین می‌باشد. مقاومت نسبت به این پادزیست نیز روند رو به افزایش داشته به‌طوری‌که در این تحقیق ۹۵/۲۳٪ بوده است. سویه‌های به‌دست‌آمده در این پژوهش نسبت به بتالاکتام ها یعنی کارباپنم ها و پیپراسیلین که از خانواده پنی‌سیلین‌هاست و سفالوسپورین ها هم مقاومت بالایی نشان دادند که یکی از دلایل آن می‌تواند تولید بتالاکتاماز های مختلف باشد. در این تحقیق تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف و کارباپنمازها که گروهی از بتالاکتامازها هستند و در طبقه‌بندی آمبلر، در گروهD این آنزیم‌ها قرار می‌گیرند، موردبررسی قرار گرفتند. ۵۴/۵٪ از سویه‌هایی که با روش CDDT آزمایش شدند، تولیدکننده ESBL بودند. برای تعیین فراوانی ژن‌های بتالاکتامازهای کلاس D هیدرولیز کننده کارباپنم ها، ژن‌های گروه OXA یعنی: $bla_{OXA-23-like}$ و $bla_{OXA-24-like}$ و $bla_{OXA-58-like}$ موردبررسی قرار گرفتند. ژن OXA-23 دارای فراوانی بالایی بود (۹۸/۰۹٪). این نتیجه مشابه نتایج همکاران دیگر در ایران و سایر کشورهای جهان می‌باشد به‌طوری‌که Bahador و همکاران در ۲۰۱۵ در ایران این ژن را به‌عنوان فراوان‌ترین نوع کارباپنماز معرفی کردند (۱۵). Ganjo و همکاران نیز در سال ۲۰۱۶ در عراق فراوانی این ژن را ۹۲٪ اعلام کردند (۱۶). این نتایج مشابه یافته‌های Pasanem و همکاران در فنلاند در ۲۰۱۴ و Nowak و همکاران در ۲۰۱۲ در لهستان می‌باشد که این ژن را به‌عنوان فراوان‌ترین ژن در گروه OXA معرفی نمودند (۱۶،۱۷). این ژن بر روی عناصر ژنتیکی متحرکی همچون پلاسمیدها قرار دارد بنابراین به‌راحتی در بین باکتری‌ها قابل‌انتقال بوده و سبب افزایش مقاومت آن‌ها نسبت به کارباپنم ها می‌شود (۴). فراوانی ژن OXA-24 کمتر از ژن قبلی، یعنی ۶۴/۷۶٪ بوده است که این نتیجه نیز مشابه با نتایج بقیه همکاران در ایران و سایر کشورها می‌باشد. به‌عنوان‌مثال Villalon و همکاران در اسپانیا در سال ۲۰۱۳ میزان فراوانی این ژن را ۵۷/۶٪ و Nowak و همکاران در ۲۰۱۲ در لهستان میزان آن را ۴۶/۱٪ گزارش نمودند (۱۸،۱۹). این ژن ممکن است بر روی کروموزوم و یا پلاسمید قرار داشته باشد که در صورت پلاسمیدی بودن، می‌تواند در بین باکتری‌ها انتقال یابد. نکته قابل‌توجه در این تحقیق این است که میزان هر دو ژن $bla_{OXA-23-like}$ و $bla_{OXA-24-like}$ در بیمارستان میلاد کمتر از بقیه بیمارستان‌ها بوده است که نشان می‌دهد سویه‌های ایزوله شده در این بیمارستان‌ها هنوز به‌طور کامل این ژن را دریافت ننموده‌اند. ژن $bla_{OXA-58-like}$ در هیچ‌یک از نمونه‌ها یافت نشد که البته در بررسی‌های همکاران دیگری در ایران نیز تقریباً همین‌طور بوده است مانند Karmostaji و همکاران در سال ۲۰۱۳ در تهران که میزان فراوانی این ژن را ۰/۸٪ اعلام نموده (۲۰) و Sohrabi و همکاران در تبریز در سال ۲۰۱۲ و Bagheri و همکاران در ۲۰۱۵ در کاشان شیوع آن را ۳/۲٪ دانستند (۲۱،۲۲). علاوه بر پلاسمیدها، اینتگرون ها و ترانسپوزون ها نیز جزو Accessory genes بوده و نقش مهمی در کسب مقاومت نسبت به پادزیست‌ها و مواد ضدعفونی‌کننده و افزایش بقاء باکتری‌ها در شرایط خارج بدن دارند (۲۳).

ترانسپوزون ها، که گاهی به‌عنوان عناصر قابل‌انتقال نامیده می‌شوند، قطعاتی از DNA دو رشته‌ای هستند که قدرت تکثیر ندارند مگر اینکه داخل یک رپلیکون قرار گیرند. یکی از دلایل اهمیت ترانسپوزون ها، وجود ژن‌هایی است که غالباً روی ترانسپوزون ها حمل می‌گردند (۲۴). توالی‌های الحاقی یا Insertion sequenceکه به‌اختصار IS نامیده می‌شوند، ساده‌ترین نوع ترانسپوزون هستند که تنها یک ژن منفرد برای آنزیم ترانسپوزاز داشته و در دو انتها دارای توالی‌های کوتاه و مکمل معکوس بوده و به چند خانواده تقسیم می‌شوند (۲۵). نکته‌ای که در مورد دلایل مقاومت به انواع پادزیست‌ها حائز اهمیت می‌باشد این است که ژن‌های متفاوتی سبب ایجاد مقاومت می‌شوند که ممکن است دارای بیان بالایی نباشند، ولی درصورتی‌که در مجاورت عناصر ژنتیکی مانند توالی‌های الحاقی قرار گیرند، علاوه بر اینکه باعث انتقال این ژن‌ها در بین باکتری‌ها می‌گردند، در افزایش بیان ژن مربوطه و درنتیجه افزایش مقاومت نسبت به پادزیست‌ها نقش بسیار مهم و اساسی را ایفا می‌نمایند. ازاین‌رو مطالعات وسیعی در دنیا بر روی این عناصر ژنتیکی متحرک در حال انجام است.Tutron و همکاران در سال ۲۰۰۶ در انگلستان به مطالعه‌ای در مورد نقش *ISAba1* در بیان ژن‌های کارباپنماز OXA در *اسینتوباکتر بومانی* پرداخته و بیان داشتند که *ISAba1* به‌عنوان پروموتوری برای ژن‌های $bla_{OXA-51-like}$ و احتمالاً $bla_{OXA-23-like}$ می‌باشند (۵). Higgins و همکاران نیز در ۲۰۱۰، مقاومت به ایمی پنم را مرتبط با حضور *ISAba1 در بالادست ژن اصلی* $bla_{OXA-51-like}$ *و کارباپنمازهای اکتسابی* $bla_{OXA-23-like}$ *و* $bla_{OXA-24-like}$ *و* $bla_{OXA-58-like}$ دانستند (۱). در این تحقیق نیز علاوه بر *ISAba1 به بررسی فراوانی ISAba2* نیز پرداخته‌شده است که به نظر می‌رسد فراوانی آن در ایران تابه‌حال بررسی نشده است و این تحقیق برای اولین بار در کشور گزارشی از میزان شیوع *ISAba2* ارائه نموده است. در این مطالعه، میزان

فراوانی *ISAba1*، ۱۰۰٪ و *ISAba2*، ۹۲/۳۶٪ بوده است. حضور بالای این توالی‌ها، خود دلیلی بر مقاومت زیاد این باکتری‌ها نسبت به بسیاری از پادزیست‌ها است زیرا این توالی‌های الحاقی با قرار گرفتن در ناحیه بالادست ژن‌های OXA سبب افزایش بیان آن‌ها می‌شوند (۵). این حضور بالای توالی‌های *ISAba1* در بررسی‌های محققین دیگری نیز اعلام‌شده است، مانند Ganjo و همکاران در ۲۰۱۶ در عراق که میزان آن را در بالادست ۱۰۰٪ از ژن $bla_{OXA\text{-}23\text{-}like}$ گزارش نمودند (۱۶)، Bagheri و همکاران نیز در ۲۰۱۵ در کاشان، میزان *ISAba1* را در ۱۰۰٪ از نمونه‌ها، نشان دادند (۲۲). همچنین Sohrabi و همکاران در ۲۰۱۲ در تبریز، فراوانی *ISAba1* را ۹۰٪ گزارش نمودند (۲۱). نتایج این بررسی علاوه بر اینکه مقاومت بالای این باکتری نسبت به تمام گروه‌های پادزیستی را نشان می‌دهد، انتشار وسیع ژن‌های کارباپنماز OXA را نیز در این باکتری آشکار می‌کند و ثابت می‌کند که مقاومت زیاد این باکتری به کارباپنم ها می‌تواند به خاطر حضور عناصر افزایش‌دهنده بیان ژن‌های کارباپنمازی باشد و ازآنجایی‌که این عناصر در قابل‌انتقال نمودن ژن‌های مقاومت پادزیستی در بین باکتری‌ها نقش دارند، رعایت اصول ایمنی از قبیل جداسازی بیماران عفونی از بقیه و ایزوله نمودن کامل بیماران بخش ICU و جلوگیری از مصرف خودسرانه دارو از اقدامات بسیار مؤثر در کاهش مرگ‌ومیر ناشی از این باکتری خواهد بود.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از کارکنان مرکز تحقیقات عفونی اطفال بیمارستان مفید به خاطر همکاری صمیمانه در انجام این تحقیق کمال تشکر و امتنان رادارم.

تعارض منافع

بین نویسندگان و مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Higgins P , Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii. J Antimicrob Chemother. 2010; 65(2):233-8.
2. Gales A, Jones R, Sader H. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006-09). J Antimicrob Chemother. 2011; 66(9):2070-4.
3. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator R. Acinetobacter baumannii: an emerging opportunistic pathogen. Virulence. 2012; 3(3):243-50.
4. Peleg A, Seifert H, Paterson D. Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. 2008; 21(3):538-82.
5. Turton J, Ward M, Woodford N, Kaufmann M, Pike R, Livermore D. The role of ISAba1 in expression of OXA carbapenemase genes in Acinetobacter baumannii. FEMS Microbiol lett. 2006; 258(1):72-7.
6. Lopes B, Amyes S. Role of ISAba1 and ISAba125 in governing the expression of blaADC in clinically relevant Acinetobacter baumannii strains resistant to cephalosporins. J Med Microbiol. 2012; 61(8):1103-8.
7. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect. 2006; 12(9):826-36.
8. Zavascki A, Carvalhaes C, Picao R, Gales A. Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii: resistance mechanisms and implications for therapy.Expert Rev Anti Infect Ther. 2010; 8(1):71-93.
9. Fishbain J, Peleg A. Treatment of Acinetobacter infections. Clin Infect Dis . 2010; 51(1):79-84.
10. Peerayeh S, Karmostaji A, Sarasiabi S, Javadpour S, Davoodian P, Moradi N. In Vitro Activity of Tigecycline and Colistin against clinical isolates of Acinetobacter baumannii in Hospitals in Tehran and Bandar-Abbas, Iran. Electron Physician. 2014; 6(3):919-24.
11. Mohammadi F, Arabestani M, Safari M, Roshanaii G, Alikhani M. Prevalence of class1, 2 and 3 integrons among extensive drug resistance Acinetobacter baumanii strains isolated from intensive care units in Hamadan, west province, Iran. Iran J Med Microbiol. 2014; 8(3):8-14.

Downloaded from ijmm.ir at 5:25 +0330 on Wednesday November 21st 2018

Downloaded from ijmm.ir at 5:25 +0330 on Wednesday November 21st 2018

12. Goudarzi M, Hashemi A, Fatemeh F, Noori M, Erfanimanesh S, Yosefi N. Detection of blaDIM, blaAIM, blaGIM, blaNDM and blaVIM Genes among Acinetobacter baumannii strains isolated from hospitalized patients in Tehran hospitals, Iran. Iran J Med Microbiol. 2016; 9(4):32-9.

13. Bahador A, Taheri M, Pourakbari B, Hashemizadeh Z, Rostami H, Mansoori N. Emergence of rifampicin, tigecycline, and colistin-resistant Acinetobacter baumannii in Iran; spreading of MDR strains of novel International Clone variants. Microb Drug Resist. 2013; 19(5):397-406.

14. Vakili B, Fazeli H, Shoaei P, Yaran M, Ataei B, Khorvash F, et al. Detection of colistin sensitivity in clinical isolates of Acinetobacter baumannii in Iran. J Res Med Sci. 2014; 19(1):67-70.

15. Bahador A, Raoo An R, Farshadzadeh Z, Beitollahi L, Khaledi A, Rahimi S, et al. The Prevalence of IS Aba 1 and IS Aba 4 in Acinetobacter baumannii Species of Different International Clone Lineages Among Patients With Burning in Tehran, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2015; 8(7):1-9.

16. Ganjo AR, Maghdid DM, Mansoor IY, Kok DJ, Severin JA, Verbrugh HA, et al. OXA-Carbapenemases Present in Clinical Acinetobacter baumannii-calcoaceticus Complex Isolates from Patients in Kurdistan Region, Iraq. Microb Drug Resist. 2016; 22(8):627-637.

17. Pasanen T, Koskela S, Mero S, Tarkka E, Tissari P, Vaara M, et al. Rapid molecular characterization of Acinetobacter baumannii clones with rep-PCR and evaluation of carbapenemase genes by new multiplex PCR in Hospital District of Helsinki and Uusimaa. PloS one. 2014; 9(1):e85854.

18. Nowak P, Paluchowska P, Budak A. Distribution of blaOXA genes among carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii nosocomial strains in Poland.New Microbiol. 2012; 35(3):317-25.

19. Villalon P, Valdezate S, Medina-Pascual MJ, Carrasco G, Vindel A, Saez-Nieto JA. Epidemiology of the Acinetobacter-derived cephalosporinase, carbapenem-hydrolysing oxacillinase and metallo-beta-lactamase genes, and of common insertion sequences, in epidemic clones of Acinetobacter baumannii from Spain. J Antimicrob Chemother. 2013; 68(3):550-3.

20. Karmostaji A, Najar Peerayeh S, Hatef Salmanian A. Distribution of OXA-Type Class D β-Lactamase Genes Among Nosocomial Multi Drug Resistant Acinetobacter baumannii Isolated in Tehran Hospitals. Jundishapur J Microbiol. 2013; 6(5):8219.

21. Sohrabi N, Farajnia S. Prevalence of OXA-Type -lactamases among Acinetobacter baumannii isolates from Northwest of Iran. Microbial Drug Resistance. 2012; 18(4):385-9.

22. Bagheri Josheghani S, Moniri R, Firoozeh F, Sehat M, Dasteh Goli Y. Susceptibility Pattern and Distribution of Oxacillinases and bla PER-1 Genes among Multidrug Resistant Acinetobacter baumannii in a Teaching Hospital in Iran. J Pathog. 2015; 2015 (2015),957259.

23. Stokes H, Gillings M. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. FEMS Microbiol Rev. 2011; 35(5):790-819.

24. Walker T. Stuart. Microbiology. 3rd. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1998.

25. Evans B, Amyes S. OXA beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2014; 27(2):241-63.