



## Prevalence of class 1, 2 and 3 integrons among extensive drug resistance *Acinetobacter baumannii* strains isolated from intensive care units in Hamadan, west province, Iran

Fatemeh Moammadi<sup>1</sup>, Mohammad Reza Arabestani<sup>1,3</sup>, Marzieh Safari<sup>1</sup>, Ghodrattollah Roshanai<sup>2</sup>  
Mohammad Yousef Alikhani<sup>3</sup>

1. Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.
2. Modeling of Noncommunicable diseases Research center, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Public Health, Hamadan University of Medical Sciences.
3. Brucellosis Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

### Article Information

#### Article history:

Received: 2014/03/19  
Accepted: 2014/05/21  
Available online: 2014/10/08

#### Article Subject:

Antimicrobial Resistance

IJMM 1393; 8(3): P 8-14

#### Corresponding author at:

**Dr. Mohammad Yousef Alikhani**

Brucellosis Research Center,  
Hamadan University of Medical  
Sciences, Hamadan, Iran.

#### Email:

[alikhani43@yahoo.com](mailto:alikhani43@yahoo.com)

### Abstract

**Background and Aim:** *Acinetobacter baumannii* is opportunistic, gram negative, aerobic and nonfermentative coccobacilli. It is difficult to control and eradicate these bacteria, because of increased resistance to last-line antibiotic therapy and high peripheral resistance. The purpose of this study was to determine the prevalence of integron and its relationship with the antibiotic resistance in *A. baumannii*.

**Materials and Methods:** 100 isolates of *A. baumannii* were gathered since 2012-2013 from ICU of three educational hospitals of Hamadan, Iran. After phenotypic identification of strains, they were confirmed with amplification of the *blaOXA-51* gene by PCR. Antibiotic susceptibility pattern of isolates was determined by disk agar diffusion (DAD) method. The presence of class 1, 2 and 3 integrons were analyzed using the PCR method.

**Results:** The most antibiotic resistance pattern was observed to ceftazidime (98%) and the highest sensitivity was seen to colistin sulfate (99%) and tigecycline (88%). Prevalence of integron class 1 and 2 were 97% and 31%, respectively. Class 3 integron was found in any of the isolates.

**Conclusions:** In this study, a very high resistance to different classes of antibiotic and high prevalence of class 1 integron was detected in *A. baumannii*. Statistical analysis showed association of class 1 integron with drug resistant in this bacterium. Also no significant relationship between antibiotic resistance and the presence of class 2 integron was found in statistical analysis.

**Key Words:** *Acinetobacter baumannii*, Extensively Drug-Resistant, Integron

Copyright © 2014 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

#### How to cite this article:

Moammadi F, Arabestani M, Safari M, Roshanai G, Alikhani M. Prevalence of class 1, 2 and 3 integrons among extensive drug resistance *Acinetobacter baumannii* strains isolated from intensive care units in Hamadan, west province, Iran. Iran J Med Microbiol. 2014; 8 (3) :8-14

## بررسی شیوع اینتگرون های کلاس ۱، ۲ و ۳ در سویه های XDR/سینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه بیمارستان های شهر همدان

فاطمه محمدی<sup>۱</sup>، محمدرضا عربستانی<sup>۳،۱</sup>، مرضیه صفری<sup>۱</sup>، قدرت الله روشنایی<sup>۳</sup>، محمدیوسف علیخانی<sup>۳</sup>

۱. گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
۲. گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات مدلسازی بیماری های غیرواگیر، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
۳. مرکز تحقیقات بروسولوز، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

**زمینه و اهداف:** سینتوباکتر بومانی کوکوباسیل فرصت طلب، گرم منفی، هوازی و غیر تخمیری است. مقاومت روزافزون به آخرین خط درمانی پادزیستی و مقاومت بالای محیطی، کنترل و ریشه کنی این باکتری را دشوار نموده است. الگوی مقاومت این باکتری در هر منطقه با منطقه دیگر متفاوت است. با توجه به افزایش مرگ و میر در بیماران تعیین این الگو برای مشخص نمودن استراتژی مقابله با این باکتری و استفاده بهینه از پادزیست ها ضروری است. لذا هدف از انجام این مطالعه بررسی شیوع اینتگرون ها و ارتباط آن ها با مقاومت دارویی این باکتری است.

**مواد و روش کار:** این مطالعه بر روی ۱۰۰ ایزوله/سینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران بستری در بخش های ICU طی سال های ۱۳۹۲-۱۳۹۱ در شهر همدان انجام شد. پس از تعیین هویت سویه ها با روش فنوتیپی، تأیید نهایی آن ها توسط ردیابی ژن bla<sub>oxa-51</sub> با روش PCR صورت پذیرفت. الگوی حساسیت پادزیستی ایزوله ها به روش دیسک آگار دیفیوژن (DAD) تعیین گردید. حضور اینتگرون های کلاس ۱، ۲ و ۳ با استفاده از روش PCR مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** در این مطالعه بالاترین مقاومت نسبت به پادزیست سفنازیدیم (۹۸٪) و بیشترین ترین حساسیت مربوط به پادزیست های کلیستین سولفات (۹۹٪) و تایجی سایکلین (۸۸٪) مشاهده شد. فراوانی اینتگرون های کلاس ۱ و ۲ به ترتیب برابر ۹۷٪ و ۳۱٪ در میان سویه های ایزوله شده بود. اینتگرون کلاس ۳ در هیچ یک از ایزوله ها یافت نشد.

**نتیجه گیری:** در این مطالعه مقاومت بسیار بالا نسبت به کلاس های مختلف پادزیستی در ایزوله ها و شیوع بالای اینتگرون کلاس ۱ مشاهده شد که آنالیز آماری نیز ارتباط اینتگرون کلاس ۱ را با مقاومت دارویی در این سویه ها نشان داد ( $p < 0.5$ ). هم چنین از لحاظ آنالیز آماری نتایج معنی داری بین حضور اینتگرون کلاس ۲ و الگوی مقاومت دارویی وجود نداشت.

**کلمات کلیدی:** سینتوباکتر بومانی، Extensively Drug-Resistant، اینتگرون

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

### تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۱۰

پذیرش: ۱۳۹۳/۰۵/۱۵

انتشار آنلاین: ۱۳۹۳/۰۷/۲۰

### موضوع:

مقاومت پادزیستی

IJMM 1392; 8(3): P 8-14

### نویسنده مسئول:

دکتر محمد یوسف علیخانی

مرکز تحقیقات بروسولوز، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

تلفن: ۰۹۱۲۵۴۴۳۱۴۷

پست الکترونیک:

alikhani43@yahoo.com

### مقدمه

گرفته می شوند (۱). سینتوباکتر بومانی کوکوباسیل فرصت طلب، گرم منفی، هوازی، غیر تخمیری و اکسیداز منفی و شایع ترین گونه ای است که به عنوان عامل عفونت های بیمارستانی معمولاً

چهار گونه سینتوباکتر که از نظر فنوتیپی تشخیص آن ها دشوار است، به عنوان کمپلکس سینتوباکتر کلکواستیکوس-بومانی (*A. calcoaceticus -baumannii complex*) در نظر

این مطالعه بررسی شیوع اینتگرون های کلاس ۲، ۱ و ۳ در ایزوله های بالینی XDR/اسینتوباکتر بومانی در شهر همدان می باشد.

### مواد و روش ها

#### جمع آوری نمونه

در این مطالعه توصیفی مقطعی، ۱۰۰ ایزوله اسینتوباکتر بومانی که از نمونه های بالینی مختلف شامل تراشه، خون، ادرار، خلط و زخم بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه (ICU) بیمارستان های آموزشی بعثت، فرشچیان و شهید بهشتی دانشگاه علوم پزشکی همدان که در طی یک سال (۹۱-۹۲) جداسازی شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند.

#### شناسایی باکتری

سویه های اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده با استفاده از تست- های بیوشیمیایی استاندارد و کیت های API 20NE System (Biomérieux, France) تعیین هویت شده و با رد یابی ژن *bla<sub>OXA-51</sub>* که در سویه های اسینتوباکتر بومانی وجود دارد مورد تأیید قرار گرفتند (۱۱). به منظور انجام آزمون های تکمیلی نمونه های باکتریایی به محیط کشت BHI Broth (Merk, Germany) حاوی ۱۸٪ گلیسرول تلقیح و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

#### بررسی حساسیت پادزیستی

تست آنتی بیوگرام با روش استاندارد انتشار دیسک (Kirby Bauer) و بر اساس استانداردهای CLSI 2011 (۱۲) بر روی محیط مولر هینتون آگار (Merk, Germany) انجام شد. تعیین حساسیت و مقاومت ایزوله ها نسبت به پادزیست های (Mast, UK) آمیکاسین (30 µg)، جنتامایسین (10 µg)، توبرامایسین (10 µg)، داکسی سایکلین (30 µg)، تایجی سایکلین (15 µg)، ایمی پنم (10 µg)، مروپنم (10 µg)، پپیراسیلین/ تازوباکتام (100/10 µg)، آمپی سیلین/ سولباکتام (20 µg)، سفنازیدیم (30 µg)، سفی پیم (30 µg)، سفوتاکسیم (۳۰ µg)، کلیستین (10 µg)، سیپروفلوکساسین (5 µg)، لووفلوکساسین (5 µg) صورت گرفت. سوسپانسیون میکروبی استاندارد براساس ۰/۵ مک فارلند معادل  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml تهیه و به روش چمنی بر روی محیط مولر کشت داده شد. پس از قرارگیری دیسک های مذکور، به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۵ °C انکوبه شدند. از

در عفونت های مرتبط با وسایل پزشکی، از خون، خلط، پوست، مایع پلور و ادرار جدا شده است (۴-۲). طیف عفونت های اسینتوباکتر بومانی گسترده است و شامل پنومونی وابسته به ونتیلیاتور (VAP)، باکتری می، عفونت پوست و بافت نرم (SSTI)، عفونت های پس از تروما (زخم)، عفونت های دستگاه ادراری (UTI)، مننژیت و به ندرت اندوکاردیت، اندوفتالمیت و کراتیت می باشد (۱). اسینتوباکتر بومانی به خصوص عامل عفونت در بخش مراقبت های ویژه (ICU) است (۷-۵). سرعت بالای کسب ژن های مقاومت پادزیستی و مقاومت بالای محیطی، کنترل و ریشه کنی این پاتوژن را دشوار ساخته است (۸، ۵).

سویه های MDR شامل ایزوله هایی از اسینتوباکتر بومانی است که حداقل به سه کلاس مختلف پادزیستی از جمله تمام پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها (حتی مهار کننده های ترکیبی)، فلوروکینولون ها و آمینوگلیکوزیدها مقاوم باشند. سویه های XDR (Extensively Drug-Resistant) شامل ایزوله هایی از اسینتوباکتر بومانی است که علاوه بر مقاومت به سه کلاس پادزیستی فوق (سویه های MDR) نسبت به کارباپنم ها نیز مقاوم باشند. سویه های XDR/اسینتوباکتر بومانی که نسبت به پلی میکسین ها و تایجی سایکلین هم مقاومت نشان می دهند سویه های PDR (Pan Drug-Resistant) نامیده می شوند (۹).

انتشار مقاومت پادزیستی از طریق انتقال افقی ژن ها منجر به ظهور سریع مقاومت پادزیستی در میان ایزوله های کلینیکی باکتری ها شده است. بسیاری از عناصر ژنتیکی متحرک مثل پلاسمیدها، ترانسپوزون ها، فاژها و اینتگرون ها مسئول انتقال افقی ژن های مقاومت پادزیستی اند. مطالعات اخیر نشان داده است که اینتگرون ها نقش عمده ای در انتشار ژن های مقاومت پادزیستی در محیط های کلینیکی ایفا می کنند. اینتگرون ها عناصر ژنتیکی هستند که شامل تعدادی ژن و محل ویژه الحاق برای سیستم نوترکیبی هستند که آن ها را قادر می سازد تا کاست های ژنی متحرک را به دست بیاورند. تنها سه کلاس اینتگرون امروزه به طور وسیع مطالعه شده اند و از نظر کلینیکی مهم اند که به عنوان اینتگرون های کلاس ۱، ۲ و ۳ نام گذاری می شوند (۱۰). با توجه به اینکه میزان شیوع اینتگرون ها در سویه های XDR/اسینتوباکتر بومانی بالا می باشد و چنین مطالعه ای در شهر همدان صورت نگرفته است، لذا هدف از انجام

کلاس دو (int2) و اینتگرون کلاس ۳ (int3) به صورت هم زمان در دستگاه ترموسایکلر (Biorad,US) با شرایط دمای دانتوراسیون اولیه  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل حرارتی شامل: دمای دانتوراسیون  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال پرایمر  $55^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه و دمای تکثیر  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷۲ ثانیه و در پایان دمای تکثیر نهایی  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. شرایط تکثیر ژن *bla<sub>OXA-51</sub>* نیز مشابه با سه ژن فوق ولی در دمای اتصال  $55^{\circ}\text{C}$  انجام شد. محصولات PCR به ژل آگارز ۱٪ حاوی سایبر سیف انتقال و در دستگاه gel documentation مشاهده و عکس برداری شدند. برای اطمینان از صحت انجام آزمایش، از سویه کنترل سودوموناس آئروژینوزا تأیید شده حاوی اینتگرون کلاس ۱ (بانک میکروبی آزمایشگاه میکروبی شناسی همدان) به عنوان کنترل مثبت و از میکروتیوب های حاوی مواد واکنش بدون DNA الگو به عنوان کنترل آلودگی آزمون PCR استفاده شد. (شکل شماره ۱) هم چنین برای اینتگرون های کلاس ۲ و ۳ نیز از اسینتوباکتر بومانی تأیید شده داری اینتگرون های کلاس ۲ و ۳ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (بانک میکروبی آزمایشگاه میکروبی شناسی همدان). تعیین توالی محصولات حاصل از PCR به منظور تأیید به سفارش شرکت تکاپوزیست و توسط شرکت بایونیر کره انجام شد.

### آزمون آماری

در این مطالعه ارتباط بین اینتگرون ها با مقاومت دارویی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و آزمون مربع کای دو مورد بررسی قرار گرفت. سطح معنی داری کم تر از ۰/۵ در نظر گرفته شد. ( $p < 0.5$ )

*E.coli* ATCC 25922 (بانک میکروبی آزمایشگاه میکروبی شناسی همدان) نیز بر اساس پروتکل CLSI 2011 به عنوان کنترل کیفی استفاده شد.

### استخراج DNA

استخراج DNA به روش فنل کلروفرم ایزوآمیل الکل انجام شد. بطور خلاصه، سویه های اسینتوباکتر بومانی را در محیط LB broth (Luria-bertain) تلقیح نموده و پس از ۱۸ ساعت انکوبه شدن در انکوباتور شیکر دار، رسوب باکتری ها در بافر لیز کننده حاوی EDTA، Tris-Hcl و سپس SDS و پروتئیناز K حل شدند. به مدت یک ساعت در بن ماری  $60^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند. در ادامه هم حجم سوسپانسیون فوق مخلوط فنل کلروفرم الکل ایزوآمیلیک (۱:۲۴:۲۵) اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با دور  $9000\text{rpm}$  در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد تکرار مرحله قبل با فاز رویی و سپس اضافه نمودن همان حجم کلروفرم به میکروتیوب به منظور حذف نمودن مقادیر ناچیز فنل صورت گرفت. پس از سانتریفیوژ مجدد با اضافه نمودن ۱/۵ میلی لیتر اتانول خالص سرد به فاز رویی رشته های DNA ظاهر می شدند. DNA حاصل در بافر TE و در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  نگه داری می شد. (۱۳)

### واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)

واکنش PCR با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شد. هر واکنش PCR شامل ۱۰ میکرولیتر Master mix (تولید شرکت آریا طوس)، ۱ میکرولیتر از پرایمرها (به سفارش شرکت تکاپوزیست و ساخت توسط شرکت بایونیر کره) با غلظت ۱۰ پیکومول، ۰/۵ میکرولیتر DNA الگو و ۷/۵ میکرولیتر آب مقطر می باشد. پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است (۱۴-۱۶). تکثیر ژن اینتگرون کلاس ۱ (Int1)، اینتگرون

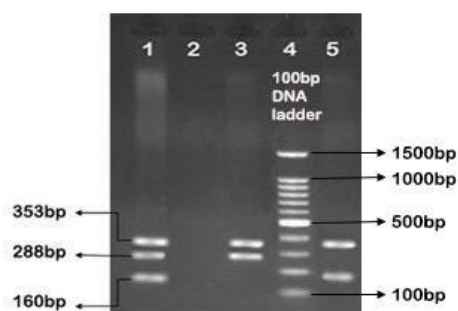
جدول ۱-۰: پرایمرهای مورد استفاده در PCR

منبع	دمای اتصال (°C)	اندازه باند (bp)	توالی نوکلئوتیدی پرایمر	پرایمر
14	55	160	F: CAG TGG ACA TAA GCC TGT TC R: CCC GAC GCA TAG ACT GTA	Int 1
14	55	288	F: TTG CGA GTA TCC ATA ACC TG R: TTA CCT GCA CTG GAT TAA GC	Int 2
15	52	1041	F: GCC TCC GGC AGC GAC TTT CAG R: ACG GAT CTG CCA AAC CTG ACT	Int 3
16	52	353	F: TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG R: TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG	Oxa51

Int1: integrase gene class1; int2: integrase gene class2; int3: integrase gene class3

یافته ها

(جدول شماره ۲). براساس نتایج انجام آزمون آماری مجذور کای دو، ارتباط معنی داری بین حضور اینتگرون کلاس ۱ و الگوی مقاومت دارویی مشاهده شد، اما بین وجود ژن کد کننده اینتگرون کلاس ۲ و مقاومت دارویی در سویه های *اسینتوباکتر بومانی* ارتباط معنی داری وجود نداشت.



شکل ۱: الکتروفورز ژن های *int2*، *int1* و *blaOXA-51* در *اسینتوباکتر بومانی*.  
 ۱: کنترل مثبت حاوی ژن های *int2*، *int1* و *blaOXA-51*. ۲: کنترل منفی،  
 ۳: باندهای 288 bp ژن *int2*، 353bp ژن *blaOXA-51*؛ ۴: 100bp DNA Ladder؛  
 ۵: باندهای 160bp ژن *int1* و 353bp ژن *blaOXA-51*

در این مطالعه توصیفی مقطعی، ۱۰۰ ایزوله کلینیکی *اسینتوباکتر بومانی* از بیمارستان های بعثت (۳۷٪)، فرشچیان (۳۵٪) و بهشتی (۲۸٪) جمع آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. در بین نمونه های جمع آوری شده بیش ترین نمونه مربوط به تراشه (۷۴٪) و خون (۱۶٪) می باشد و نمونه ادرار (۵٪)، خلط (۴٪) و زخم (۱٪) کم ترین میزان را در این میان دارا بودند. بیش ترین مقاومت مربوط به پادزیست های سفتازیدیم (۹۸٪)، سیپروفلوکساسین (۹۷٪) و بیش ترین حساسیت مربوط به پادزیست های کلیستین سولفات (۹۹٪) و تایجی سایکلین (۸۸٪) بود (جدول شماره ۲). در مطالعه حاضر مقاومت بالایی نسبت به ۶ کلاس پادزیستی مختلف مشاهده گردید که به ترتیب مربوط به پنی سیلین ها (۹۸٪)، سفالوسپورین ها (۹۶٪)، پپیراسیلین/تازوباکتام (۹۵٪)، فلور کینولون ها (۹۴٪)، کارباپنم ها (۸۹/۵٪) و آمینوگلیکوزیدها (۸۳/۶٪) بود که نشان دهنده الگوی مقاومت گسترده (XDR) این باکتری است.

فراوانی اینتگرون کلاس ۱، ۲ به ترتیب معادل ۹۷٪، ۳۱٪ بود و اینتگرون کلاس ۳ در هیچکدام از ایزوله ها یافت نشد

جدول ۲۰: الگوی حساسیت پادزیستی ایزوله های *اسینتوباکتر بومانی* در سویه های دارا و فاقد اینتگرون کلاس ۱

P value	ایزوله های فاقد اینتگرون (n=3)			ایزوله های دارای اینتگرون (n=97)			پادزیست
	مقاوم No(%)	متوسط No(%)	حساس No(%)	مقاوم No(%)	متوسط No(%)	حساس No(%)	
<0.001	۱ (۳۳/۳)	۰ (۰)	۲ (۶۶/۷)	۸۳ (۸۵/۶)	۹ (۹/۳)	۵ (۵/۱)	آمیکاسین
<0.001	۱ (۳۳/۳)	۰ (۰)	۱ (۳۳/۳)	۸۷ (۸۹/۷)	۱ (۱/۰)	۱۰ (۱۰/۳)	جنتامايسين
<0.001	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۳۳/۳)	۷۸ (۸۰/۴)	۱ (۱/۰)	۱۹ (۱۹/۶)	توبرامايسين
0.051	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۱۰۰)	۲۹ (۲۹/۹)	۳۷ (۳۸/۱)	۳۱ (۳۱/۹)	داکسی سایکلین
0.516	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۱۰۰)	۰ (۰)	۱۲ (۱۲/۴)	۸۵ (۸۷/۶)	تایجی سایکلین
<0.001	۱ (۳۳/۳)	۰ (۰)	۰ (۰)	۹۶ (۹۸/۹)	۱ (۱/۰)	۲ (۲/۰)	سیپروفلوکساسین
<0.001	۱ (۳۳/۳)	۲ (۶۶/۷)	۰ (۰)	۹۷ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	سفوناکسیم
<0.001	۱ (۳۳/۳)	۰ (۰)	۲ (۶۶/۷)	۹۷ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	سفترایدیم
<0.001	۰ (۰)	۱ (۳۳/۳)	۲ (۶۶/۷)	۹۲ (۹۴/۸)	۵ (۵/۱)	۰ (۰)	سفی پیم
<0.001	۱ (۳۳/۳)	۱ (۳۳/۳)	۲ (۶۶/۷)	۹۰ (۹۲/۸)	۵ (۵/۱)	۱ (۱/۰)	لووفلوکساسین
<0.001	۰ (۰)	۱ (۳۳/۳)	۲ (۶۶/۷)	۹۵ (۹۷/۹)	۱ (۱/۰)	۱ (۱/۰)	پپیراسیلین/تازوباکتام
0.151	۰ (۰)	۱ (۳۳/۳)	۳ (۱۰۰)	۳۱ (۳۱/۹)	۲۲ (۲۲/۷)	۴۲ (۴۳/۳)	آمی سیلین/سولباکتام
<0.001	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۱۰۰)	۸۵ (۸۷/۶)	۲ (۲/۰)	۱۰ (۱۰/۰)	ایمی پنم
<0.001	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۱۰۰)	۹۴ (۹۶/۹)	۱ (۱/۰)	۲ (۲/۰)	مروپنم
<0.001	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۱۰۰)	۱ (۱/۰)	۰ (۰)	۹۶ (۹۸/۹)	کلیستین سولفات

## بحث

روی ۹۶ سویه اسینتوباکتر بومانی صورت پذیرفت میزان حساسیت پادزیستی سویه ها نسبت به ایمی پنم، آمیکاسین، جنتامایسین، آمپی سیلین، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین و کلیستین به ترتیب ۴۸٪، ۴۴٪، ۲۶٪، ۲٪، ۳۱٪، ۳۰٪ و ۱۰۰٪ گزارش گردید (۲۳) که در مقایسه با مطالعه ما بالاتر بودن میزان حساسیت سویه ها نسبت به پادزیست ها را نشان می داد و از طرفی در مطالعه ما ۱٪ مقاومت به کلیستین وجود داشت، در حالی که در این مطالعه ۱۰۰٪ سویه ها حساس بودند.

پلاسمیدها، ترانسپوزون ها و اینتگرون ها به طور کلی از فاکتورهای اصلی و مهم در اکتساب و انتقال مکانیسم های مقاومت نسبت به پادزیست ها هستند (۲۴-۲۶). در واقع اینتگرون ها به عنوان یکی از عوامل متحرک ژنتیکی محسوب می شوند که قادر به حمل و گسترش ژن های مقاومت پادزیستی در این باکتری ها می باشند و انتقال افقی آن ها در بین باکتری ها یکی از مهم ترین راه های انتشار ژن های مقاومت و به وجود آمدن سویه های مقاوم به چند دارو است (۲۷). بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه ۹۷٪ از ایزوله ها دارای اینتگرون کلاس ۱ و ۳۱٪ دارای کلاس ۲ بودند. ۹۲/۵٪ از ایزوله ها الگوی مقاومت XDR را نشان دادند که همگی از نظر حضور اینتگرون کلاس ۱ مثبت بودند. نتایج حاصل از این مطالعه در مقایسه با سایر مطالعات حضور بالای اینتگرون ها و مقاومت بالا در سویه های اسینتوباکتر بومانی را نشان می دهد. به طوری که مطالعه Pymani و همکاران در سال ۲۰۱۲ در تبریز بر روی اسینتوباکتر بومانی نشان داد که ۸۰٪ ایزوله ها الگوی MDR داشتند و اینتگرون کلاس ۱ (۹۲/۵٪) به طور گسترده ای در میان ایزوله های MDR وجود دارد (۲۸). همچنین در مطالعه Taherikalani و همکاران در سال ۲۰۱۱ در ایلام، ۵۸٪ ایزوله های اسینتوباکتر بومانی دارای اینتگرون کلاس ۱۴/۱٪ دارای اینتگرون کلاس ۲ و ۹٪ ایزوله ها دارای هر دو کلاس ۱ و ۲ بودند. کلاس ۳ در هیچ کدام از ایزوله ها یافت نشد. در این مطالعه شیوع بالای اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در میان ایزوله های دارای الگوی MDR مشاهده شد (۲۹). در مطالعه Japoni و همکاران در سال ۲۰۱۱ در شیراز، ۵۳/۴٪ از سویه های اسینتوباکتر دارای کلاس ۱ یا ۲ یا هر دو کلاس بودند. فراوانی اینتگرون کلاس ۱، ۴۷/۷٪، اینتگرون کلاس ۲ برابر ۳/۴٪ بود. اینتگرون کلاس ۱ و ۲، ۲/۳٪ و اینتگرون کلاس ۳ یافت نشد (۳۰). مطالعه دیگری توسط

اسینتوباکتر بومانی یک باکتری فرصت طلب با پاتوژنیسیته بالاست که مسئول عفونت های جدی در بخش ICU می باشد (۱۷). بیش ترین عفونت گزارش شده از این باکتری به خصوص در بیمارانی که از تهویه مکانیکی استفاده می کنند، پنومونی می باشد (۱۸). این باکتری عامل مرگ و میر ۷/۵٪ تا ۲۳٪ پنومونی منتقله در بیمارستان و ۱۰٪ تا ۴۳٪ در بخش های ICU می باشد (۱۹).

اعضای جنس اسینتوباکتر دارای گرایش بالایی جهت توسعه مقاومت نسبت به پادزیست ها می باشند و به طور ذاتی نسبت به بعضی از پادزیست ها مقاوم هستند و توانایی زیادی در کسب مکانیسم های مقاومت جدید را دارند. مطالعات قبلی نشان می دهد که سولباکتام (آمپی سیلین/ سولباکتام)، کارباپنم ها (ایمی پنم، مروپنم و دوری پنم) آمیکاسین، توبرامایسین، کلیستین، پلی میکسین B و E، تایجی سایکلین و مینوسایکلین درمان خط اول برای عفونت های ناشی از اسینتوباکتر بومانی است (۲۰). این در حالی است که شاهد مقاومت روزافزون این باکتری نسبت به پادزیست های فوق هستیم. حساسیت سویه های اسینتوباکتر بومانی مورد مطالعه ما نسبت به آمپی سیلین/ سولباکتام ۴۶٪، ایمی پنم ۱۳٪، مروپنم ۵٪، آمیکاسین ۷٪، توبرامایسین ۲۰٪، کلیستین سولفات ۹۹٪ و تایجی سایکلین ۸۸٪ بود که فعال بودن پادزیست های سمی تر در برابر این باکتری نگرانی و تهدید مهمی محسوب می گردد. بررسی مطالعات اخیر نیز نشان دهنده حرکت الگوی مقاومت باکتری به سمت حساسیت کم تر به آخرین پادزیست های مورد استفاده با گذشت زمان است به طوری که در مطالعه Akbari و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تهران، میزان حساسیت به جنتامایسین، ایمی پنم، آمپی سیلین/ سولباکتام، آمیکاسین در اسینتوباکتر بومانی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن به ترتیب ۵۵٪، ۴۷٪، ۳۸٪ و ۳۸٪ بود (۲۱) که حساسیت بیش تر سویه های این مطالعه را نسبت به آمپی سیلین/ سولباکتام نشان می دهد. در مطالعه Mostofi و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تهران، سویه های اسینتوباکتر بومانی دارای حساسیت ۲۲٪، ۶۵٪، ۷۲٪ و ۵۲٪ نسبت به پادزیست های ایمی پنم، مروپنم، توبرامایسین، پی پراسیلین/ تازوباکتام به ترتیب بودند (۲۲) که نشان دهنده حساسیت بالاتر این سویه ها نسبت به مطالعه کنونی است. مطالعه ای که توسط Sirichot و همکاران در سال ۲۰۰۹، بر

سفالوسپورین ها وجود داشتند. ایزوله های مقاوم به سفتریاکسون و سفوتاکسیم بیشترین ایزوله های دارای اینتگرون کلاس ۱ بودند (۵۸/۷٪) که به ترتیب شامل سفتریاکسون (۵۸/۷٪) و سفپیم (۵۸/۵٪) است. ایزوله های مقاوم به تتراسایکلین نیز بیشترین ایزوله های دارای اینتگرون کلاس ۲ بودند (۲۲،۵٪) که به ترتیب شامل جنتامایسین (۱۷/۷٪) و آمیکاسین (۱۶/۱٪) می باشد (۲۹). در مطالعه Japoni و همکاران نیز نشان داده شد که بین اینتگرون کلاس ۱ و پادزیست های نورفلوکساسین، سفنازیدیم، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، سفپیم، آمیکاسین ارتباط آماری وجود دارد (۳۰). در مطالعه Lin و همکاران در تایوان نیز سویه های دارای اینتگرون کلاس ۱ از نظر آماری مقاومت بیش تری نسبت به سویه های فاقد اینتگرون نشان دادند. این مطالعه هم چنین پیشنهاد می کند که حضور اینتگرون ها به عنوان شاخصی برای مقاومت چندگانه در *اسینتوباکتر بومانی* باشد (۳۲).

در مجموع این مطالعه نشان داد کلیستین سولفات و تایجی سایکلین، موثرترین پادزیست ها بر علیه *اسینتوباکتر بومانی* می باشند. فراوانی بالای اینتگرون کلاس ۱ و مقاومت بالای پادزیستی در ایزوله های *اسینتوباکتر بومانی* هشدار جدی برای مسئولین بهداشتی درمانی است. ارتباطات آماری بین مقاومت دارویی و اینتگرون ها نشان می دهد که اینتگرون ها کد کننده و انتشار دهنده مقاومت دارویی در بین ایزوله های *اسینتوباکتر بومانی* هستند.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارمندان و کارکنان آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان به جهت همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال تشکر را دارم. این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجویی در مقطع کارشناسی ارشد می باشد.

### تعارض منافع:

بین نویسندگان هیچ تعارضی وجود ندارد

Japoni-Nejad و همکاران در سال ۲۰۱۳ در اراک فراوانی اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در ایزوله های مورد بررسی به ترتیب برابر با ۹۸/۴٪ و ۱۵/۹٪ گردید که فراوانی بیش تر اینتگرون کلاس ۱ و فراوانی کم تر اینتگرون کلاس ۲ را در این شهر نشان می دهد (۳۱). در مطالعه Mirnejad و همکاران در سال ۲۰۱۳ در تهران ۴۲٪ از سویه های *اسینتوباکتر بومانی* دارای اینتگرون کلاس ۱ و ۸۲٪ دارای اینتگرون کلاس ۲ بودند (۳۲). در این مطالعه برخلاف سایر مطالعات فراوانی اینتگرون کلاس ۲ بیش تر است که تفاوت منطقه جغرافیایی را در شیوع اینتگرون ها حتی در یک کشور نشان می دهد. در مطالعه ای که توسط Lin و همکاران در سال ۲۰۱۳ در تایوان انجام پذیرفت، فراوانی اینتگرون کلاس ۱ برابر ۷۲٪ بود و اینتگرون کلاس ۲ یافت نشد (۳۳). در مطالعه Koczura و همکارانش در سال ۲۰۱۴ در لهستان، ۶۳/۵٪ از سویه های *اسینتوباکتر بومانی* حاوی اینتگرون کلاس ۱ بودند و اینتگرون کلاس ۲ و ۳ در هیچ ایزوله ای وجود نداشت (۳۴). در مطالعه Mengelöglu و همکارانش در سال ۲۰۱۴ در ترکیه ۳۳٪ از ایزوله های *اسینتوباکتر بومانی* داری اینتگرون کلاس ۱ بودند و در این مطالعه اینتگرون کلاس ۲ در هیچ ایزوله ای یافت نشد (۳۵). در دو مطالعه اخیر شاهد شیوع کم تر اینتگرون های کلاس ۱ و مقاومت دارویی در این کشورها هستیم که احتمالاً به دلیل متفاوت بودن منطقه جغرافیایی و استفاده کنترل شده و صحیح از پادزیست ها می باشد.

در مطالعه حاضر ارتباط معنی داری ( $p < 0.5$ ) بین اینتگرون کلاس ۱ و پادزیست های مورد مطالعه به جز تایجی سایکلین و داکسی سایکلین مشاهده شد. در مطالعه Pymani و همکاران نیز در ایران، آنالیز آماری ارتباط معنی داری بین الگوی MDR و اینتگرون کلاس ۱ را نشان داد به طوری که بین ایزوله های دارای اینتگرون کلاس ۱ و مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها، کینولون ها و ترکیبات بتالاکتام به جز سفی پیم ارتباط مهم و معنی داری وجود داشت. ۷/۵٪ از ایزوله های اینتگرون منفی نیز به پادزیست های فوق مقاوم بودند که می تواند بیانگر مقاومت کروموزومی یا مقاومت توسط سایر عناصر متحرک باشد (۲۸). همچنین در مطالعه Taherikalani و همکاران در ایران اینتگرون ها در بیش از ۵۰٪ ایزوله های مقاوم به پنی سیلین و

## References

- O'Shea MK. Acinetobacter in modern warfare. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 39(5):363-75.
- Koo SH, Kwon KC, Cho HH, Sung JY. Genetic basis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from three university hospitals in Chungcheong Province, Korea. *Korean J Lab Med*. 2010; 30(5):498-506.
- Consales G, Gramignani E, Zamidei L, Bettocchi D, De Gaudio AR. A multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in intensive care unit: antimicrobial and organizational strategies. *J Crit Care*. 2011; 26(5):453-9.
- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 24th ed. The United States: The McGraw-Hill Companies, Inc; 2007.
- Huang LY, Chen TL, Lu PL, Tsai CA, Cho WL, Chang FY, et al. Dissemination of multidrug-resistant, class 1 integron-carrying *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(11):1010-9.
- Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernandez-Hinojosa E, et al. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. *Intensive Care Med*. 2005; 31: 649-655.
- Cisneros JM, Rodriguez-Bano J. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2002; 8: 687-693.
- Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis*. 2006; 42: 692-699.
- Vikas M, Sanchaita S, Singh NP. Multi drug Resistant *Acinetobacter*. *J Glob Infect Dis*. 2010; 2(3): 291-304.
- Yan H, Li L, Zong M, Alam MJ, Shinoda S, Shi L. Occurrence and characteristics of class1 and 2 integrons in clinical bacterial isolate from patients in south China. *J Health Sci*. 2010; 56(4):442-50.
- Visca P, Seifert H, Townner KJ. *Acinetobacter* infection-an emerging threat to human health. *IUBMB Life*. 2011; 63(12):1048-54.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 21th Informational Supplement. M100-S21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.
- Elbaradie SMY, Mahmoud M, Farid M. Maternal and Neonatal Screening for Group B Streptococci by *scpB* Gene Based PCR: A Preliminary Study. *Indian J Med Microbiol*. 2009;27(1):17-21.
- Koeleman JGM, Stoof J, Van Der Bijl MW, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Savelkoul PHM. Identification of Epidemic Strains of *Acinetobacter baumannii* by Integrase Gene PCR. *J Clin Microbiol*. 2001; 39(1): 8-13.
- Ploy MC, Denis F, Courvalin P, Lambert T. Molecular Characterization of Integrons in *Acinetobacter baumannii*: Description of a Hybrid Class 2 Integron. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44(10): 2684-2688.
- Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents*. 2006; 27(4):351-353.
- Schuetz AN, Huard RC, Eshoo MW, Massire C, Della-Latta P, Wu F, et al. Identification of a novel *Acinetobacter baumannii* clone in a US hospital outbreak by multilocus polymerase chain reaction/electrospray-ionization mass spectrometry. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012; 72(1):14-9.
- Corbella X, Montero A, Pujol M, Domínguez MA, Ayats J, Argerich MJ, et al. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*. 2000; 38(11):4086-95.
- 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):105-14.
- Fishbain J, Peleg AY. Treatment of *Acinetobacter* Infections. *Clin Infect Dis*. 2010; 51(1):79-84.
- Akbari M, Niakan M, Taherikalani M, Feizabadi MM, Azadi NA, Soroush S, et al. Rapid identification of Iranian *Acinetobacter baumannii* strains by single PCR assay using BLA oxa-51-like carbapenemase and evaluation of the antimicrobial resistance profiles of the isolates. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2010; 57(2):87-94.
- Mostofi S, Mirnejad R, Masjedian F. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* strain isolated from the clinical specimens of three hospital in Tehran-Iran. *Afr J Microbiol Res*. 2011; 5(21):3579-82.
- Sirichot S, Diraphat P, Utrarachkij F, Tribuddharat C, Siripanichgon K. Dissemination of class I integron in *Acinetobacter baumannii* isolated from ventilator-associated pneumonia patients and their environment. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2009; 40(6):1284-92.
- 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): 4114-4123.
- Adams MD, Goglin K, Molyneaux N, Hujer KM, Lavender H, Jamison JJ, et al. Comparative genome sequence analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol*. 2008; 190(24):8053-64.
- Stokes HW, Gillings MR. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. *FEMS Microbiol Rev*. 2011; 35(5):790-819.
- Gillings Michae, Boucher Y, Labbate M, Holmes A, Krishnan S, Holley M, et al. The evolution of class 1 integrons and the rise of antibiotic resistance. *J Bacteriol*. 2008; 190(14): 5095-5100.
- Peymani A, Farajnia S, Nahaei MR, Sohrabi N, Abbasi L, Ansarin K, et al. Prevalence of class 1 integron among multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Tabriz, northwest of Iran. *Pol J Microbiol*. 2012; 61(1):57-60.
- Taherikalani M, Maleki A, Sadeghifard N, Mohammadzadeh D, Soroush S, Asadollahi P, et al. Dissemination of class 1, 2 and 3 integrons among different multidrug resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* in Tehran hospitals, Iran. *Pol J Microbiol*. 2011; 60(2):169-74.
- Japoni S, Japoni A, Farshad S, Ali AA, Jamalidoust M. Association between existence of integrons and multi-drug resistance in *Acinetobacter* isolated from patients in southern Iran. *Pol J Microbiol*. 2011; 60(2):163-8.
- Japoni-Nejad A, Farshad S, van Belkum A, Ghaznavi-Rad E. Novel cassette array in a class 1 integron in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from central Iran. *Int J Med Microbiol*. 2013; 303(8):645-50.
- Mirnejad R, Mostofi S, Masjedian F. Antibiotic resistance and carriage class 1 and 2 integrons in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Tehran, Iran. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2013 Feb;3(2):140-5.
- Lin MF, Liou ML, Tu CC, Yeh HW, Lan CY. Molecular epidemiology of integron-associated antimicrobial gene cassettes in the clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from northern Taiwan. *Ann Lab Med*. 2013; 33(4):242-7.
- Koczura R, Przystalskowska B, Mokracka J, Kaznowski A. Class 1 integrons and antibiotic resistance of clinical *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex in Poznań, Poland. *Curr Microbiol*. 2014; 69(3):258-62.
- Mengeloğlu FZ, Copur Çiçek A, Koçoğlu E, Sandallı C, Budak EE, Özgümüş OB. Carriage of class 1 and 2 integrons in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens and a novel gene cassette array: blaOXA-11-cmlA7. *Mikrobiyol Bul*. 2014; 48(1):48-58.