Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 9, Number 4 (02-2016)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Detection of *bla*DIM, *bla*AIM, *bla*GIM, *bla*NDM and *bla*VIM Genes among *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospitalized patients in Tehran hospitals, Iran

Hossein Goudarzi ,Ali Hashemi , Fatemeh Fallah , Maryam Noori , Soroor Erfanimanesh, Neda Yosefi, Mohsen Heidary , Saeed Khoshnood and Hamidreza Houri

Department of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Article Information

Article history:
Received: 2014/11/03
Accepted: 2015/03/04
Available online:2016/01/10

Article Subject:
Medical Bacteriology

IJMM 1394; 9(4): 32-39

Corresponding author at:
Dr Ali Hashemi

Department of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Tel:
+98 21 23872556

Email:
hashemi1388@yahoo.com
ali.hashemi@sbmu.ac.ir

Abstract

Background and Aim: The rising trend of antibiotic resistance among *A. baumannii* strains has become a global concern. The most common mechanism of resistance is beta-lactamase production with genes transferring on mobile genetic elements such as plasmids. The aim of this study was to determine the frequency of *bla*NDM, *bla*GIM, *bla*AIM, *bla*DIM and *bla*VIM type genes among *A. baumannii* isolates from hospitalized patients in Tehran, Iran.

Materials and Methods:From May 2012 to July 2013, 108 *A. baumannii* strains were isolated from blood, wound, urine, sputum and respiratory tract of hospitalized patients in Loghman hakim and Milad hospitals. Antibiotic susceptibility tests were performed by Kirby-Bauer disc diffusion and broth microdilution methods according the CLSI guidelines. The frequency of MBL (Metallo-Beta-Lactamase) producers was evaluated by CDDT. The β-lactamases genes were detected by PCR method.

Results: The resistance of *A. baumannii* isolates against tested antibiotics were as follows: 103 (95.4%) to ceftazidime, 108 (100%) to cefotaxime, 105 (95.7%) to cefepime, 99 (91.7%) to imipenem, 99 (91.7%) to meropenem, 87 (80.6%) to amikacin, 105 (97.2%) to piperacillin, 100 (92.6%) to ciprofloxacin, 103 (95.4%) to piperacillin/tazobactam, 44 (40.7%) to gentamicin, 106 (98.1%) to ampicillin/sulbactam, 106 (98.1%) to co-trimoxazole, 87 (80.6%) to tetracycline, and 1 (0.9%) to colistin. Using combined disk diffusion test, 86 (86.86%) were MBL producers. The prevalence of *bla*VIM-1 gene was 15 (17.44%) and other genes were not detected.

Conclusions: The prevalence of MBLs-producing *A. baumannii* strains detected in this study is a major concern and highlights the need for infection control measures such as antibiotic management protocols and rapid identification of resistant strains.

Key Words: *Acinetobacter baumannii*, Metallo-beta-lactamase, Antibiotic Resistance

Copyright © 2016 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Goudarzi M, Hashemi A, Fatemeh F, Noori M, Erfanimanesh S, Yosefi N, Heidary M, et al . 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) :32-39

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران
سال ۹ – شماره ۴ – زمستان ۱۳۹۴
Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی وجود ژن های *bla*DIM, *bla*AIM, *bla*GIM, *bla*NDM و *bla*VIM در ایزوله های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان های شهر تهران

حسین گودرزی، علی هاشمی، فاطمه فلاح ، مریم نوری، سرور عرفانی منش، ندا یوسفی، محسن حیدری، سعید خشنود و حمید رضا حوری

گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۲۸
پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۱۳
انتشار آنلاین: ۱۳۹۳/۱۰/۲۰
موضوع:
باکتری شناسی پزشکی
IJMM 1394; 9(4): 32-39

نویسنده مسئول:
دکتر علی هاشمی
تهران، ولنجک، بلوار دانشجو، خیابان کودک یار، دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی- طبقه هفتم- گروه میکروب شناسی
تلفن: ۰۲۱۲۳۸۷۲۵۵۶
پست الکترونیک:
hashemi1388@yahoo.com
ali.hashemi@sbmu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: امروزه، میزان افزایش مقاومت به دارو در میان سویه های *اسینتوباکتر بومانی* یک نگرانی بزرگ در سرتاسر جهان است. رایج ترین مکانیسم مقاومت، تولید بتالاکتامازها می باشد که ژن های آنها اغلب بر روی عناصر ژنتیکی متحرک مانند پلاسمیدها قرار دارند، لذا، هدف از این مطالعه تعیین فراوانی ژن های *bla*NDM, *bla*GIM, *bla*AIM, *bla*DIM و *bla*VIM در ایزوله های *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از بیماران بستری می باشد.

مواد و روش ها: از خرداد ماه سال ۱۳۹۱ تا مرداد ماه سال ۱۳۹۲ ، ۱۰۸ سویه *اسینتوباکتر بومانی* از خون، زخم ، ادرار ، خلط و مجاری تنفسی بیماران بستری در بیمارستان های لقمان حکیم و بیمارستان میلاد جدا شد. برای تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی از روش های دیسک دیفیوژن و میکرودایلوشن براث بر طبق رهنمودهای CLSI استفاده گردید. شناسایی سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز (MBL) به وسیله Disk Combined Test Diffusion (CDDT) مورد بررسی قرار گرفت و سپس تشخیص ژنهای متالوبتالاکتاماز به روش های PCR انجام شد.

یافته‌ها: میزان مقاومت سویه های جدا شده به آنتی بیوتیک های تست شده به این ترتیب بود: ۱۰۳ (۹۵/۴٪) به سفتازیدیم، ۱۰۸ (۱۰۰٪) به سفوتاکسیم، ۱۰۵ (۹۵/۷٪) به سفپیم، ۹۹ (۹۱/۷٪) به مروپنم، ۸۷ (۸۰/۶٪) به آمیکاسین، ۱۰۵ (۹۷/۲٪) به پیپراسیلین، ۱۰۰ (۹۲/۶٪) به سیپروفلوکساسین، ۱۰۳ (۹۵/۴٪) به پیپراسیلین-تازوباکتام، ۴۴ (۴۰/۷٪) به جنتامایسین، ۱۰۶ (۹۸/۱٪) به آمپی سیلین-سولباکتام، ۱۰۶ (۹۸/۱٪) به کوتریموکسازول ، ۸۷ (۸۰/۶٪) به تتراسایکلین، ۱ (۰/۹٪) به کلیستین. با استفاده از روش CDDT فراوانی *اسینتوباکتر بومانی* تولید کننده MBL به ترتیب ۸۶ (۸۰/۶٪) بود. ۱۵(۱۷/۴۴٪) از ایزوله ها دارای ژن *bla*VIM بودند و بقیه ژنها در سویه ها دیده نشد.

نتیجه‌گیری: شیوع سویه های *اسینتوباکتر بومانی* تولید کننده متالوبتالاکتاماز شناسایی شده در این مطالعه نگران کننده می باشد که نیاز به اقدامات کنترل عفونت از جمله مدیریت مصرف آنتی بیوتیک ها و شناسایی سریع ایزوله های مقاوم می باشد.

کلمات کلیدی: *اسینتوباکتر بومانی*، متالوبتالاکتاماز، مقاومت آنتی بیوتیکی

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

مقدمه

سویه های باکتریایی مقاوم به دارو از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی در سرتا سر جهان هستند. اخیرا سویه های (PDR) Pan Drug Resistant که به همه عوامل ضد باکتریایی به استثنای پـــــلی میکسین ها و تایجی سیکلین هـا و سویه‌های (XDR) extreme-drug-resistant که به همه عوامل ضد میکروبی مقاوم هستند، از عفونت های اکتسابی بیمارستان جدا شده اند. خطر بزرگی در مورد گسترش این سویه های مقاوم به دارو در اجتماع وجود دارد (۱). یکی از عوامل مهم عفونت بیمارستانی در سرتاسر جهان *اسینتوباکتربومانی* می باشد که موجب باکتریمی، پنومونی مرتبط به ونتیلاتور، عفونت دستگاه ادراری، مننژیت و عفونت زخم در بیماران بستری به ویژه در بخش ICU میگردد (۲). امروزه، میزان افزایش مقاومت به دارو در میان سویه های *اسینتوباکتر بومانی* یک نگرانی بزرگ در سرتاسر جهان است. رایجترین مکانیسم مقاومت تولید بتالاکتامازها از جمله آنزیم های کلاس های A، B و D آمبلر می باشد که ژن های آنها اغلب بر

روی عناصر ژنتیکی متحرک مانند پلاسمیدها قرار دارند (۳). علت مقاومت به آنتی بیوتیک ها بویژه کارباپنم ها، متالوبتالاکتامازها (MBL) هستند که بسیار مهمتر از دیگر مکانیسم های مقاومت می باشند، زیرا متالوبتالاکتامازها می توانند تقریبا همه آنتی بیوتیک های بتالاکتام بجز مونوباکتام ها را هیدرولیز کنند (۴). علاوه بر این ، ژن های کد کننده متالوبتالاکتامازها بر روی اینتگرون قرار دارند که می توانند به راحتی از یک باکتری به باکتری دیگر انتقال پیدا کرده و منتشر شوند. بسیاری از متالوبتالاکتاماز ها از جمله IMP ، SPM، VIM، SIM، KHM، GIM، AIM ,NDM-۱ در باکتریها یافت شده است (۵). بتالاکتامازهای نوع VIM اولین بار در سویه ی *سودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به چند دارو (MDR) در ایتالیا در سال ۱۹۹۰ شناسایی شدند و از آن به بعد در سرتاسر جهان گزارش شده است. بیش از ۴۱ آلوتایپ گوناگون از VIM تعریف شده است(۵). متالوبتالاکتاماز دهلی نو(NDM-۱) یک نوع جدید از متالوبتالاکتاماز ها می باشند که اولین بار از دو سویه *کلبسیلا پنومونیه* و *اشریشیا کلی* جدا شده از یک بیمار سوئدی مراجعه کننده به بیمارستان دهلی نو هند شناسایی شد(۶). در سال های اخیر ظهور و انتشار سویه های تولیدکننده NDM-۱ در چندین کشور از جمله ایالات متحده امریکا ، کانادا، سوئد، انگلیس، اتریش، بلژیک، فرانسه، هلند، آلمان، ژاپن، آفریقا، عمان و استرالیا گزارش شده است (۷). باکتری های تولید کننده NDM تقریبا به همه گروه های آنتی بیوتیکی از جمله فلوروکینولون ها، آمیوگلیکوزید ها و بتالاکتام ها (به ویژه کارباپنم ها) مقاومند، اما به کلیستین وبعضی اوقات به تایجی سیکلین حساس هستند (۵). ژن *bla*NDM-۱ بر روی پلاسمید های بزرگ مختلفی شناسایی شده است که به راحتی بین باکتری ها قابل انتقال می باشد و باکتری های تولید کننده NDM-۱ بعنوان یک تهدید جدید در بالین و سلامت عمومی شناخته شده اند (۸) . میزان مرگ و میر در ارتباط با باکتریهای دارای متالوبتالاکتاماز بسیار بالا می باشد، به طوریکه اهمیت NDM-۱ در سال ۲۰۱۱ به اندازه بیماری ایدز، سل و مالاریا ارزیابی شده است. متالوبتالاکتاماز نوع AIM اولین بار از کشور استرالیا، متالوبتالاکتاماز نوع GIM از کشور آلمان و متالوبتالاکتاماز نوع DIM از کشور اتریش و در ایزوله های *سودوموناس ائروژینوزا* دیده شد(۵). لذا، هدف از این مطالعه شناسایی متالوبتالاکتامازها در سویه های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از بیماران بستری در بیمارستان های لقمان حکیم و میلاد شهر تهران می باشد.

روش کار

شناسایی باکتری ها

از خرداد ماه سال ۱۳۹۱ تا مرداد ماه سال ۱۳۹۲ ، ۱۰۸ سویه *اسینتوباکتر بومانی* از خون، زخم ، ادرار و خلط و مجاری تنفسی بیماران دو بیمارستان شهر تهران (۵۸ نمونه متعلق به بیمارستان لقمان حکیم و ۵۰ نمونه متعلق به بیمارستان میلاد) جدا شد. این سویه های جدا شده به وسیله روش های معمول بیوشیمیایی شناسایی شدند و همچنین توسط حضور ژن *bla*-OXA-۵۱ به وسیله PCR تایید شدند.

تست حساسیت ضد میکروبی

مقاومت دارویی سویه های جدا شده نسبت به آنتی بیوتیکهای ایمی پنم (IMP :۱۰ میکروگرم) ، مروپنم (MEM : ۱۰ میکروگرم) ، سفتازیدیم (CAZ : ۳۰ میکروگرم) ، سفوتاکسیم (CTX: ۱۰ میکروگرم) ، آمیکاسین (AK: ۱۰ میکروگرم) پیپراسیلین-تازوباکتام (PTZ:۱۰۰/۱۰ میکروگرم)، پیپراسیلین (PIP: ۱۰۰ میکروگرم)، آمپی سیلین (AMP: ۱۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (TE: ۱۰ میکروگرم)، کلیستین سولفات (CT: ۱۰ میکروگرم)،سیپروفلوکساسین (CIP: ۵ میکروگرم)، سفپیم(FEP: ۳۰ میکروگرم)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (TS:۲/۵ میکروگرم(، جنتامایسین (GEN: ۱۰ میکروگرم) (از شرکت Mast انگلیس) بر اساس رهنمودهای CLSI به روش انتشار دیسک در آگار(Diffusion Disk) انجام شد. (۱۱). از *اشریشیا کلی* ATCC ۲۵۹۲۲ بعنوان سویه کنترل کیفی استفاده شد(۹).

حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد(MIC)

سویه های مقاوم به ایمی پنم ، مروپنم، سفتازیدیم، سفپیم، سفوتاکسیم و کلیستین به روش دیسک دیفیوژن ،مجددا توسط روش میکرودایلوشن براث بر طبق دستورالعمل CLSI سال ۲۰۱۲ بررسی شدند(۹).

شناسایی فنوتیپی سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز

تست دیسک دیفیوژن ترکیبی (CDDT) با استفاده از دیسک های ایمی پنم و مروپنم (Mast انگلستان) به تنهایی و در ترکیب با EDTA(Sigma) برای شناسایی متالوبتالاکتامازها انجام شد. افزایش قطر هاله عدم رشد بیشتر یا مساوی ۷ میلیمتر در اطراف دیسک ایمی پنم + EDTA ودیسک مروپنم + EDTA در مقایسه با دیسک های ایمی پنم و مروپنم به تنهایی، نشان دهنده تولید متالوبتالاکتاماز بود (۱۰، ۴).

استخراج DNA باکتریایی

DNA سویه های *اسینتوباکتر بومانی* بوسیله کیت استخراج (شرکت Bioneer ، کره جنوبی ۲-۳۰۳۲ Cat K. Number) استخراج شد.

انجام PCR برای ژنهای *bla*NDM, *bla*GIM, *bla*AIM, *bla*DIM و *bla*VIM

از MasterMix ۲x شرکت سیناکلون (CAT. NO.:

جدول۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

نام پرایمر	ژن شناسایی شده	سکانس ژن	اندازه محصول (bp)
NDM-F NDM-R	*bla*NDM	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC CGGAATGGCTCATCACGATC	۶۲۱
GIM-F GIM-R	*bla*GIM	TCGACACACCTTGGTCTGAA AACTTCCAACTTTGCCATGC	۴۷۷
AIM-F AIM-R	*bla*AIM	CTGAAGGTGTACGGAAACAC GTTCGGCCACCTCGAATTG	۳۲۲
VIM-F VIM-R	*bla*VIM	GATGGTGTTTGGTCGCATA CGAATGCGCAGCACCAG	۳۹۰
DIM-F DIM-R	*bla*DIM	GCTTGTCTTCGCTTGCTAACG CGTTCGGCTGGATTGATTTG	۶۹۹

جدول۲: شرایط لازم برای انجام PCR

Factor	Tempreture(ºC)		Time	
	Genes			
Step	AIM DIM GIM	VIM NDM	AIM DIM GIM	VIM NDM
Initial denaturation	۹۴	۹۴	۵ دقیقه	۵ دقیقه
Denaturation	۹۴	۹۴	۴۵ ثانیه	۴۵ ثانیه
Anealing	۵۷	۵۹	۴۵ ثانیه	۴۵ ثانیه
Extention	۷۲	۷۲	۱ دقیقه	۱ دقیقه
Final extention	۷۲	۷۲	۵ دقیقه	۵ دقیقه
Cycle	۳۶	۳۶	----------	

PR۸۲۵۲C) برای انجام PCR استفاده شد. بدین ترتیب که ۱۲/۵ میکرولیتر(۱X) از مسترمیکس، ۱ میکرولیتر از پرایمر (۱۰ Forward(pmol، ۱ میکرولیتر از پرایمر (Reverse(۱۰pmol، ۳ میکرولیتر از DNA و ۷/۵ میکرولیتر آب تزریقی اضافه گردید. برای تکثیر ناحیه درونی ژنهای نامبرده شده ، مجموعه ای از پرایمرها مورداستفاده قرار گرفت(۱۱). توالی پرایمرها با اطلاعات توالی نوکلئوتیدی موجود در Bank Gene (سیستم blast) چک گردید (جدول شماره ۱). PCR بر اساس شرایط جدول شماره ۲ انجام شد.

انجام الکتروفورز

محصولات PCR را بر روی ژل آگاروز ۱٪ با بافر(TBE Tris-borate EDTA) الکتروفورز شده وسپس ژل را با اتیدیوم بروماید(۰/۱۵ µg/ml) رنگ گردید. پس از پایان الکتروفورز، ژل با دستگاه (Gel doc) و در طول موج۲۸۰nm از نظر وجود باندهای هدف در کنار مارکر مولکولی و کنترل مثبت و منفی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

۵۸ سویه (۵۳/۷٪) از بیمارستان لقمان حکیم و ۵۰ سویه (۴۶/۲۹٪) از بیمارستان میلاد جمع آوری شد.۵۱ سویه (۲/۴۷٪) مربوط به بیماران زن و ۵۷ سویه (۸/۵۲٪) مربوط به بیماران مرد بود. از مجموع ۱۰۸ سویه ،۲۹ سویه (۹/۲۶٪) از ادرار ، ۴ سویه(۷/۳٪) از زخم، ۵۷ سویه (۸/۵۲٪) از لوله تراشه، ۸ سویه (۴/۷٪) از خون ، ۸ سویه(۴/۷٪) از مایع پلور و ۲ سویه (۹/۱٪) از سایر نمونه ها جدا گردید. میانگین سنی بیماران از ۱ تا ۹۰ سال بود. سویه ها از بیماران با گروه های سنی مختلف بدست آمد ، به طوریکه ۲–۲۹ ساله(n=۱۰) ، ۳۰–۳۹ (n=۱۴) ، ۴۰–۴۹ (n=۲۱) ، ۵۰–۵۹ (n=۱۶) ، ۶۰–۶۹ (n=۲۴) ، ۷۰–۷۹ (n=۱۷) و ۶ سویه از بیماران با سن بیش از ۸۰ سال جدا گردید. نتایج مربوط به مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *اسینتوباکتر بومانی* برای آنتی بیوتیک های انجام شده در جدول ۳ و نتایج تست MIC انجام شده برای آنتی بیوتیک های مختلف در جدول ۴ آورده شده است.

جدول۳: نتایج تست های حساسیت آنتی بیوتیکی ۱۰۸ سویه *اسینتوباکتر بومانی*

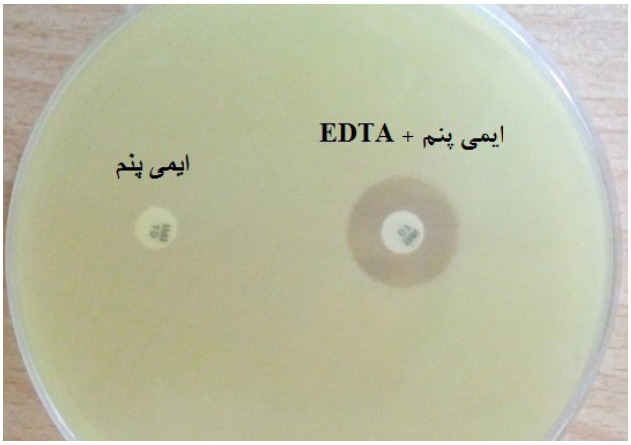
آنتی بیوتیک	تعداد و درصد سویه های مقاوم	تعداد و درصد سویه های نیمه حساس	تعداد و درصد سویه های حساس
جنتامایسین	۴۴ (۴۰/۷)	۷ (۶/۵)	۵۷ (۵۲/۸)
آمپی سیلین-سولباکتام	۱۰۶ (۹۸/۱)	۰ (۰/۰)	۲ (۱/۸)
آمیکاسین	۸۷ (۸۰/۶)	۴ (۳/۷)	۱۷ (۱۵/۷)
ایمیپنم	۹۹ (۹۱/۷)	۳ (۲/۸)	۵ (۵/۶)
سفوتاکسیم	۱۰۸ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)
سفپیم	۱۰۵ (۹۵/۷)	۲ (۱/۸)	۱ (۰/۹)
پیپراسیلین	۱۰۵ (۹۷/۲)	۲ (۱/۸)	۱ (۰/۹)
سیپروفلوکسازین	۱۰۰ (۹۲/۶)	۱ (۰/۹)	۷ (۶/۵)
مروپنم	۹۹ (۹۱/۷)	۰ (۰/۰)	۹ (۸/۳)
پیپراسیلین-تازوباکتام	۱۰۳ (۹۵/۴)	۱ (۰/۹)	۴ (۳/۷)
سفتازیدیم	۱۰۳ (۹۵/۴)	۰ (۰/۰)	۵ (۴/۷)
کوتریماکسازول	۱۰۶ (۹۸/۱)	۰ (۰/۰)	۲ (۱/۸)
تتراسیکلین	۸۷ (۸۰/۶)	۹ (۸/۳)	۱۲ (۱۱/۱)
کلیستین	۲ (۱/۸)	۰ (۰/۰)	۱۰۶ (۹۸/۲)

جدول۴: حداقل غلظت مهاری عوامل آنتی بیوتیکی مختلف برای ۱۰۸ سویه *اسینتوباکتر بومانی*

آنتی بیوتیک	Range MIC	MIC ٪۵۰	MIC ٪۹۰
مروپنم	۱-۲۵۶	۳۲	۲۸۱
ایمیپنم	۲-۲۵۶	۱۲۸	۲۵۶
سفتازیدیم	<۲-۲۵۶	۲۵۶	۵۱۲
سفپیم	۱-۲۵۶	۶۴	۱۲۸
سفوتاکسیم	<۲-۲۵۶	۲۵۶	۵۱۲
کلیستین	۰/۲۵-۱۲۸	≤۱	۲

شناسایی متالوبتالاکتاماز

با استفاده از روش دیسک دیفیوژن ترکیبی (CDDT) مشاهده گردید که از بین ۹۹ سویه غیرحساس به ایمی پنم ، ۸۶ سویه (۸۶/۸۶٪) تولیدکننده MBL بودند.



تصویر شماره‌ی ۱: سویه تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز

نتایج حاصل از PCR ژنهای *bla*NDM, *bla*GIM, *bla*AIM, *bla*DIM و *bla*VIM

(۱۷/۴۴٪) از ایزوله ها دارای ژن bla_{VIM} بودند(شکل شماره ۲) وژنهای bla_{NDM}, bla_{GIM}, bla_{AIM}, bla_{DIM} در سویه ها دیده نشد ، در ضمن ژن *bla*OXA-۵۱ در تمامی سویه ها شناسایی

تصویر شماره‌ی ۱: شناسایی ژن VIM
M: مارکر، P :کنترل مثبت، N: کنترل منفی و ۱،۲،۳،۴، ۵، ۶ نمونه های مثبت

گردید. در مطالعات قبلی که بر روی این ایزوله ها انجام شده، ژن های PER-۱ ، VEB-۱ و IMP-۱ به ترتیب در ۷۱(۷۸,۰۳٪) ، ۳۶(۳۹,۵٪) و ۳(۳,۴۸٪) از سویه ها مشاهده شد(۱) و ژن (۲) SPM در بین ایزوله ها شناسایی نگردید.

توالی ژن های *PER*-۱ ، *VEB*-۱ و *IMP*-۱ به ترتیب با شماره دسترسی KF۷۲۳۵۸۷، KF۷۲۳۵۸۶ و KF۷۲۳۵۸۵ در بانک ژن به ثبت رسیده است.

بحث

اسینتو باکتر بومانی از عوامل عفونت های اکتسابی بیمارستان است و اخیرا به یکی از مهم ترین عوامل عفونت بخش های مراقبت های ویژه بیمارستان ها تبدیل شده است. عفونت ایجاد شده توسط این باکتری اغلب منجر به مرگ و میر بالایی می شود(۱۱). در این مطالعه بهترین آنتی بیوتیک که در شرایط *in vitro* بر روی سویه های *اسینتوباکتر بومانی* اثر داشت، کلیستین بود. در مطالعه ای که Vakili و همکاران در شهر اصفهان در سال ۲۰۱۴ انجام دادند، ۱۱/۶٪ از سویه ها به کلیستین مقاوم بودند(۱۲). در مطالعه دیگری که توسط Bahador و همکاران در ایران در سال ۲۰۱۴ انجام دادند، ۱۴/۲٪ از سویه های *اسینتوباکتربومانی* مقاوم به کلیستین بودند(۱۳). این نتایج نشان می دهد که مقاومت به این آنتی بیوتیک رو به افزایش می باشد و باعث نگرانی بسیاری در تمام جهان شده است. سویه های *اسینتوباکتر بومانی* به بتالاکتام ها از جمله نسل سوم سفالوسپورین ها و کارباپنم و همچنین به آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون ها هم مقاوم شدند. مقاومت به بتالاکتام ها به دلیل آنزیم های مختلفی می باشد، از جمله بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) و متالوبتالاکتامازها (MBLs) که متعلق به کلاس A و B درتقسم بندی Ambler هستند(۱۴). در این مطالعه با استفاده از روش CDDT، ۸۶ (۸۶/۸۶٪) سویه *اسینتوباکتر بومانی* به عنوان تولید کننده متالوبتالاکتاماز بودند. متالوبتالاکتامازها در سرتاسر ایران مشاهده شده اند. Safari و همکاران در مطالعه خود اعلام کردند که میزان مقاومت *اسینتوباکتر بومانی* در برابر ایمی پنم، مروپنم، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین، پیپراسیلین/ تازوباکتام، و سفوتاکسیم به ترتیب ۸۵٪،۹۴٪،۹۷٪،۸۴٪،۹۵٪ و ۹۸٪ بود. نتایج*E*-test نشان داد که ۹۹٪ از کل سویه ها ، تولید کننده متالوبتالاکتاماز بودند (۱۵) . Peymani و همکاران در مطالعه خود اعلام کردند که در میان ۶۳ سویه غیر حساس به کارباپنم ،۳۱ (۴۹٪) سویه تولید کننده متالوبتالاکتاماز بودند (۱۶) . ژن تولید کننده متالوبتالاکتامازها بر روی عناصر ژنتیکی متحرک از جمله پلاسمید قرار دارند و همین امر باعث گسترش این آنزیم ها در سرتاسر جهان و بویژه در ایران شده است (۱۷). سویه های تولید کننده متالوبتالاکتامازمی توانند طیف گسترده ای از آنتی‌بیوتیک ها به جز آزترونام را تجزیه کنند. هر چند سویه های که دارای بتالاکتاماز با طیف وسیع باشند باکتری را به آزترونام مقاوم می کنند(۱۸, ۱۹). بنابراین شناسایی دقیق نوع مکانیسم مقاومت برای درمان مناسب بیماران ضروری می باشد. از میان ژن های متالوبتالاکتاماز،IMP به ویژه در ایران از بقیه شیوع بیشتری دارد ، این ژن اولین بار از ژاپن در سال ۱۹۸۰ گزارش شد (۱۴). در مطالعات قبلی نویسندگان که بر روی سویه های *سودوموناس آئروژینوزا* و *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از بیماران مبتلا به سوختگی انجام شد، ژن IMP شایعترین ژن متالوبتالاکتاماز بود (۴, ۳)، هر چند در بعضی از مطالعات انجام شده در ایران ژن VIM از بقیه ژن ها شیوع بیشتری داشت. اولین بار در ایران این ژن توسط Khosravi و همکاران از اهواز گزارش شده بود(۴). در مطالعه حاضر، ژن IMP تنها در ۳ سویه *اسینتوباکتر بومانی* و VIM در میان ۱۷سویه، با استفاده از PCR و تعیین توالی شناسایی شد. ژن کد کننده متالوبتالاکتاماز $bla_{\text{NDM-۱}}$ اولین باراز دهلی نو و پس از آن از کشورهای دیگر از جمله پاکستان گزارش شد. فاصله نزدیک این کشورها به ایران و تعداد زیاد سفرهای بین دو کشور از یک طرف و سهولت انتقال مقاومت در این باکتری از طرف دیگر،ما را بسوی این فکر رهنمود کرد که ممکن است سویه های ما نیز همان ژن را داشته باشند. در مطالعات قبلی که ما بر روی سویه های *سودوموناس آئروژینوزا*، *اسینتوباکتر بومانی* و *کلبسیلا پنومونیه* انجام دادیم ، این ژن را شناسایی نکردیم(۵،۳،۱). در ایران تنها یک مطالعه مبنی بر وجود این ژن در یک ایزوله *کلبسیلا پنومونیه* وجود دارد که توسط Shahcheraghi و همکاران انجام شد(۲۰). اهمیت این ژن مقاومت به اندازه مالاریا، سل و ایدز ارزیابی شده است(۵). تقریبا در بسیاری از نقاط جهان این ژن شناسایی شده است. این نوع مطالعات برای جلوگیری ازانتشار باکتری های مقاوم به سایر نقاط جهان با ارزش هستند. در نهایت، با غربالگری دقیق سویه های دارای متالوبتالاکتاماز و نظارت بیشتر می توان گسترش *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو و عفونت های مرتبط با آن را بویژه در بیماران ICU را کاهش داد (۱). بر اساس اطلاعات موجود *اسینتو باکتر بومانی* درحال تبدیل شدن به مهم ترین باکتری تولید کننده ESBL می باشد، در نتیجه ریشه کن کردن آنها دشوار است. در مطالعه قبلی که بر روی این نمونه ها انجام شده، ۹۱(۸۴/۲٪) سویه های *اسینتو باکتر بومانی* به عنوان تولید کننده ESBL شناسایی شدند . در میان سویه های *اسینتوباکتر بومانی* دارای بتالاکتاماز با طیف وسیع، ژن $bla_{\text{PER-۱}}$ از بقیه شایع تر بود که ۷۱(۷۸/۰۳٪) از سویه ها دارای این ژن بودند. ژن دیگری که قبلا شناسایی شده ، VEB بود که (۳۹/۵٪) ۳۶ از سویه های جدا شده، دارای ژن VEB-۱ بودند(۱). علاوه بر ژن های VEB و PER ،ژن های بتالاکتاماز با طیف وسیع دیگر مانند TEM، SHV و CTX-M در باکتریهای دیگر از قبیل *اشریشیاکلی* ، *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه* در مطالعات ما در ایران دیده شده است(۲۴-۲۱). بقیه ژنها در مطالعه ما دیده نشده است و هنوز هم گزارشی از وجود این ژن ها از ایران وجود ندارد. شیوع سویه های تولید کننده بتالاکتاماز،به طور چشمگیری در سراسر

جهان افزایش یافته است. افزایش استفاده از داروهای ضد میکروبی توسط بیماران، منجر به ریشه کن کردن فلور نرمال و جایگزین شدن سویه های مقاوم به چند دارو می شود. تجویز اشتباه دارو و عدم تشخیص سویه های مقاوم باعث گسترش بیشتر این سویه ها شده است. نوع ماده ضد عفونی کننده که برای سطوح و مکانها بیمارستان هم استفاده می شود، مهم است. چرا که بسیاری از مواد ضدعفونی کننده دیگر بر روی سویه ها موثر نخواهد بود، بنابراین در انتخاب مواد ضدعفونی کننده باید دقت کرد.

در این مطالعه ، مقاومت به آنتی بیوتیک ها و شیوع ژن های بتالاکتاماز در سویه های *اسینتوباکتر بومانی* نگران کننده است و نیاز به اقدامات کنترل عفونت از جمله مدیریت مصرف آنتی بیوتیک ها و شناسایی سریع ایزوله های مقاوم می باشد.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از پرسنل مرکز تحقیقات اطفال بیمارستان مفید و همکاران بخش میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی شهر تهران کمال تشکر را داریم

Reference

1. Fallah F, Noori M, Hashemi A, Goudarzi H, Karimi A, Erfanimanesh S, et al. Prevalence of bla NDM, bla PER, bla VEB, bla IMP, and bla VIM Genes among Acinetobacter baumannii Isolated from Two Hospitals of Tehran, Iran. Scientifica. 2014; 2014: 245162.

2. Noori M, Karimi A, Fallah F, Hashemi A, Alimehr S, Goudarzi H, et al. High Prevalence of Metallo beta-lactamase Producing Acinetobacter baumannii Isolated From Two Hospitals of Tehran, Iran. Arch Pediatr Infect Dis. 2014;3(1):e15439.

3. Hakemi Vala M, Hallajzadeh M, Hashemi A, Goudarzi H, Tarhani M, Sattarzadeh Tabrizi M, et al. Detection of Ambler class A, B and D ß-lactamases among Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii clinical isolates from burn patients. Ann Burns Fire Disasters. 2014;27(1):8-13.

4. Fallah F, Borhan RS, Hashemi A. Detection of bla(IMP) and bl (VIM) metallo-beta-lactamases genes among Pseudomonas aeruginosa strains. Int J Burn Trauma. 2013;3(2):122-24.

5. Fallah F, Taherpour A, Vala MH, Hashemi A. Global Spread of New Delhi mettallo-beta-lactamase-1 (NDM-1). Arch Clin Infect Dis. 2012;6(4):171-77.

6. Fallah F, Hakemivala M, Hashemi A, Shams S. Emergenece of novel plasimid-mediated beta-lactamase in Klebsiella pneumoniae (REVIEW ARTICLE). Qom Univ Med Sci J. 2013; 4(24):104-16.

7. Rahmati Roodsari M, Fallah F, Taherpour A, Hakemi Vala M, Hashemi A. Carbapenem-Resistant Bacteria and Laboratory Detection Methods. Arch Pediatr Infect Dis. 2013;2(3):188-91.

8. Hashemi A, Fallah F, Erfanimanesh S, Hamedani P, Alimehr S. Detection of β-Lactamases and Outer Membrane Porins among Klebsiella pneumoniae Strains Isolated in Iran. Scientifica. 2014;2014: 726179.

9. Clinical and Laboratory Standards Institute.Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-second informational supplement. Document M100-S22 Wayne, PA, CLSI. 2012;32(3)

10. Fallah F, Vala MH, Goudarzi H, Hashemi A, Taherpour A, Shamloo KB, et al. Identification of extended-spectrum-beta-lactamases (ESBLs), metallo-beta-lactamases (MBLs), Amp-C and KPC ß-lactamases among Klebsiella pneumoniae isolated from adults and pediatric patients in Iran. Afr J Microbiol Res. 2013;7(25):3254-61.

11. Vala MH, Hallajzadeh M, Fallah F, Hashemi A, Goudarzi H. Characterization of the Extended-Spectrum beta-Lactamase Producers among Non-Fermenting Gram-Negative Bacteria Isolated from Burnt Patients. Arch Hyg Sci 2013; 2 (1):1-6.

12. 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. Int J Res Med Sci. 2014;19(1): 67-70.

13. Bahador A, Taheri M, Pourakbari B, Hashemizadeh Z, Rostami H, Mansoori N, et al. 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. Fallah F, Taherpour A, Borhan RS, Hashemi A, Habibi M, Sajadi Nia R. Evaluation of Zataria MultiFlora Boiss and Carum copticum antibacterial activity on IMP-type metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa. Ann Burns Fire Disasters. 2013;26(4):193-98.

15. Safari M, Saidijam M, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. High Prevalence of Multidrug Resistance and Metallo-beta-lactamase (MbetaL) producing Acinetobacter Baumannii Isolated from Patients in ICU Wards, Hamadan, Iran. J Res Health Sci. 2013;13(2):162-67.

16. Peymani A, Nahaei MR, Farajnia S, Hasani A, Mirsalehian A, Sohrabi N, et al. High prevalence of metallo-beta-lactamase-producing acinetobacter baumannii in a teaching hospital in Tabriz, Iran. Jpn J Infect Dis. 2011;64(1):69-71.

17. Fallah F, Borhan RS, Gholinejad Z, Zahirnia Z, Adabiyan S, Tabrizi MS, et al. Detection of blaIMP and blaVIM Metallo-Beta-Lactamases Genes in Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from Wound of Burnt Patients in Tehran Shahid Motahari Hospital during 2011, Iran. Qom Univ Med Sci J. 2013;7(5): 21-7

18. Hashemi A, Shams S, Kalantar D, Taherpour A, Barati M. Antibacterial effect of Methanolic extract of Camellia Sinensis L. on Pseudomonas aeruginosa strains producing β-lactamases. J Gorgan Uni Med Sci. 2012;14(1):136-142.

19. Hashemi A, Shams S, Barati M, Samedani A. Antibacterial effects of methanolic extracts of Zataria multiflora, Myrtus communis and Peganum harmala on Pseudomonas aeruginosa producing ESBL. Arak Med Univ J 2011; 14(4): 104-112.

20. Shahcheraghi F, Nobari S, Rahmati Ghezelgeh F, Nasiri S, Owlia P, Nikbin VS, et al. First report of New Delhi metallo-beta-lactamase-1-producing Klebsiella pneumoniae in Iran. Microb Drug Resist. 2013;19(1):30-36.

21. Taherpour A, Hashemi A. Detection of OqxAB efflux pumps, OmpK35 and OmpK36 porins in extended-spectrum-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae isolates from Iran. Hippokratia. 2013;17(4):355-358.

22. Shakibaei MR, Shahcheraghi F, Hashemi A, Adeli NS. Detection of TEM, SHV and PER Type Extended-Spectrum ß-Lactamase Genes among Clinical Strains of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Burnt Patients at Shafa-Hospital, Kerman, Iran. Iran J Basic Med Sci. 2008 Apr 1;11(2):104-11.

23. Goudarzi H, Aghamohammad S, Hashemi A, Nikmanesh B, Noori M. Distribution of blaTEM, blaSHV and blaCTX-M Genes Among Escherichia coli Isolates Causing Urinary Tract Infection in Children. Arch Clin Infect Dis. 2013; 8(3): e16207.

24. Mansouri S, Neyestanaki DK, Shokoohi M, Halimi S, Beigverdi R, Rezagholezadeh F, et al. Characterization of AmpC, CTX-M and MBLs types of β-lactamases in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli producing Ex-tended Spectrum β-lactamases in Kerman, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(2): e8756.