مجلـــه‌ی علمـی، پژوهشـــی دانشـــگاه علـــوم پزشـــکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۳، شمـاره‌ی ۱۰۱، بهمن و اسفند ۱۳۹٤، صفحات ٤٥ تا ٥٤

بررسی ژن‌های اگزاسیلیناز در ایزوله‌های بالینی *اسینتوباکتربامانی* مقاوم به کرباپنم در بیمارستان شهید محمدی بندرعباس درسال ۱۳۹۳

فهیمه بهادری عظیم آبادی[۱]، دکتر افسانه کرمستجی[۲]

نویسنده‌ی مسوول: بندرعباس، بیمارستان شهید محمدی مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری Afsanehkk@yahoo.com

دریافت: ۹۳/۱۰/۲۵ پذیرش: ۹٤/٤/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: *اسینتوباکتر بامانی عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی است. مشکل پیش روی درمان در این باکتری، گزارشات روز افزون از مقاومت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها، از جمله کرباپنم‌ها است، یکـی از عوامـل اصـلی مقاومـت بـه کربـاپنم‌ها،اگزاسـیلینازهای متعلـق بـه گـروه D بتالاکتامازها (OXA-type) هستند. هدف از این مطالعه تشخیص مولکولی اسینتوباکتر بامانی، سنجش مقاومت به کرباپنم‌هـا شـامل ایمـی‌پـنم و مروپنم و بررسی حضور ژن‌های مقاومت به کرباپنم‌ها در میان این ایزوله‌ها می‌باشد.*

روش بررسی: *ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر با استفاده ازروش‌های بیوشیمیایی تا حد جنس، و با تکنیک PCR با شناسایی ژن bla_{OXA-51} گونـه اسینتوباکتربامانی شناسایی شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای ایمی‌پنم و مروپنم به روش دیسک دیفیوژن انجـام شـد. بـه‌منظـور شناسـایی ژن‌های مقاومت به کرباپنم‌ها (اگزاسیلینازها) روش multiplex PCR انجام شد.*

یافته‌ها: *از ۷۶ اسینتوباکتر، ۷۲ ایزوله (۹۴/۷ درصد) که دارای ژن bla_{OXA-51} بودند، به‌عنوان اسینتوباکتر بامانی شناسایی شـدند. میـزان مقاومـت این ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم و مروپنم به‌ترتیب ۶۱ (۸۴/۷ درصد) و ۷۰ (۹۷/۲ درصد) بود. تعداد ۶۳ (۸۷/۵ درصد) از ایزوله‌ها حامل ژن bla_{oxa-23} و تعداد ۷ (۹/۷ درصد) از ایزوله حامل ژن bla_{OXA-24} بودند و ژن‌های bla_{OXA-58} و $bla_{OXA-143}$ در هـیچ یـک از ایزولـه‌هـا یافت نشد.*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد که استفاده بی‌رویه از کرباپنم‌ها در درمان، فشار انتخابی برای ایجاد ایزوله‌های مقاوم را به‌وجود آورده است. تحقیق حاضر نشان داد که حضور ژن bla_{oxa-23} به‌طور واضحی با رخداد مقاومت به کرباپنم‌ها همراه است، لذا ارزیابی ژن‌های مقاومت برای پیشگیری از انتشار این ژن‌ها در بین سویه‌ها امری ضروری می‌نماید.*

واژگان‌کلیدی: اسینتو باکتربامانی، کرباپنماز، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه

اسینتوباکتر، باکتری گرم منفی، هوازی اجباری، بی‌حرکت، اکسیداز منفی، غیرتخمیر کننده، اندول منفی، کاتـالاز مثبـت و دارای همولیز و قادر به استفاده از انواع منابع غذایی است (۱). روش‌های آزمایشگاهی مبتنی برخواص بیوشیمیایی و فنوتیپی، گرچه جنس اسینتوباکتر را مشخص می‌سازد ولی قادر به تمایز گونه‌های مختلف نیـست (۲و۱). در نتیجـه از روش مولکـولی

۱- دانشجوی کارشناس ارشد میکروب شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه آزاد، واحد علوم تحقیقات شیراز

۲- دکترای تخصصی باکتری شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

شناسایی ژن *bla* OXA-51 برای شناسایی گونه‌ی غالب در عفونت‌های بیمارستانی، یعنی *اسینتوباکتربامانی* استفاده می‌شود (۳و۱). مهم‌ترین مشکل فراروی سیستم بهداشتی و درمانی و بیمارستان‌ها درمورد این باکتری، رخداد گونه‌های مقاوم چند دارویی در *اسینتوباکتر بامانی* است. *اسینتوباکتر* مقاوم به سه یا بیشتر از سه گروه آنتی‌بیوتیکی یا مقاوم به یک آنتی‌بیوتیک کلیدی در درمان را به‌عنوان باکتری با مقاومت چند دارویی می‌شناسند (٤). درسال ۲۰۰٤ مرکز کنترل بیماری‌های آمریکا (CDC) گونه *اسینتوباکتر بامانی* را عامل حدود ۸۰ درصد از عفونت‌های اسینتوباکتر برشمرد. اهمیت بالینی این باکتری به‌ویژه در طی سال‌های اخیر، با توانایی کسب شاخص های مقاومت، درمان‌های آنتی‌بیوتیکی را با تهدید جدی مواجه ساخته است (۵). پنومونی بیمارستانی، شایع‌ترین عفونت ایجاد شده توسط این میکروارگانیسم است. البته اخیرا گزارشاتی ازعفونت های درگیر کننده‌ی سیستم عصبی، پوست و بافت نرم و عفونت های استخوانی نیز در برخی بیمارستان‌ها گزارش شده است (٦). افزایش مقاومت به کرباپنم‌ها به‌عنوان درمان انتخابی عفونت‌های ناشی از *اسینتوباکتربامانی*، درمان را با محدودیت جدی مواجه ساخته است (۷). در مقاومت به این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی از جمله افزایش بیان افلاکس پمپ‌ها و تغییر در تمایل یا میزان بیان پروتئین‌های غشای خارجی موثرند (۳)، ولی مهم‌ترین مکانیسم مقاومت به کرباپنم‌ها در *اسینتوباکتر بامانی*، تولید بتالاکتام‌های کد شده به‌صورت کروموزومی و یا پلاسمیدی است که در طبقه‌بندی آمبلر در کلاس D قرار گرفته و آن‌ها را به‌نام اگزاسیلینازها می‌شناسیم (۷). اگزاسیلینازها در گونه‌های اسینتوباکتر، دارای فعالیت هیدرولیز کنندگی کرباپنم‌ها بوده و می‌توانند ایمی‌پنم و مروپنم را هیدرولیز کنند و در طبقه‌بندی که در سال ۲۰۱۰ میلادی انتشار یافته در گروه 2df قرارگرفته‌اند (۸). تاکنون پنج زیرگروه از بتالاکتامازهای گروه D در*اسینتوباکتر بامانی*، شناخته شده است که شامل گروه‌های blaOXA-51/69 و چهارشاخه از آنزیم‌های اکتسابی OXA-23, OXA-24/40, OXA-58 و *OXA-143* است، که در هر یک، انواع آنزیم‌ها با سکانس‌های مختلف موجود است. اگزاسیلیناز *bla* OXA-51 به‌طور طبیعی فقط درگونه‌ی *اسینتوباکتر بامانی* موجود است (۹) و فقط سبب هیدرولیز ضعیف سوبسترای بتالاکتامی پنی‌سیلین‌ها وکرباپنم‌ها می‌شود (۱۰). مگر این که عناصر الحاقی IS*AbaI* یا IS*Aba9* در بالا دست ژن‌های *bla*OXA-51-like قرارگرفته باشد، تا سبب افزایش بیان این ژن‌ها شوند (۱۱). بیش از ٦۸ واریته از سکانس‌های مختلف از *bla*OXA-51 را به‌عنوان آنزیم‌های کلاس D طبقه‌بندی کرده‌اند (۱۲). اولین اگزاسیلیناز با فعالیت کرباپنمازی که در سال ۱۹۹۳ میلادی گزارش شد آنزیم *bla*oxa-23 بود، که در ابتدا ARI-*1* نامیده شد و در پلاسمید *اسینتوباکتر بامانی*، دراسکاتلند شناسایی شد (۱۳). پس از آن ژن *bla*OXA-23 در سرتاسر دنیا، هم روی کروموزوم و هم روی پلاسمید شناسایی شد و ظاهرا به جز یک استثنا منحصر به جنس اسینتوباکتر است (١٤). دسته دوم از آنزیم‌های کلاس D، به‌نام OXA-24/40 هستند، که ابتدا ازکروموزوم ایزوله‌های *اسینتوباکتر بامانی* مقاوم به کرباپنم در اسپانیا جداسازی شد (۱۵). کلاس سوم از کرباپنمازهای گروه D، *OXA-58* نامیده می‌شوند (١٦). ژن *bla*OXA-58 تاکنون، فقط درگونه‌های اسینتوباکتر یافت شده و در *اسینتوباکتر جونی* در رومانی و استرالیا (۱۸و۱۷) و در *اسینتوباکتر نوزوکومیالیس* درتایوان در سال ۲۰۱۰ میلادی گزارش شده است (۱۹). ژن *bla* OXA-58، اغلب پلاسمیدی است، که به احتمال قوی مسوول انتشار جهانی آن است. این ژن، در ایتالیا و یونان شایع است (۲۱و۲۰). در یونان شیوع سویه‌های *اسینتوباکتر بامانی* مقاوم به کرباپنم تولیدکننده OXA-58، در بخش مراقبت‌های ویژه و نوزادان در یونان گزارش شده است (۲۲). باتوجه به گزارشات متعدد از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این ارگانیسم، و محدودیت‌های زیادی که دردرمان عفونت با این باکتری در

بیماران بستری در بیمارستان وجود دارد، برآن شدیم تا در مطالعه‌ی حاضر، علاوه بر تشخیص گونه‌ی *اسینتوباکتر بامانی*، الگوی مقاومت این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج دردرمان، به‌ویژه کرباپنم‌ها را به‌دست آورده و شیوع سویه‌های مقاوم به کرباپنم و ژن‌های کرباپنمازی ازگروه اگزاسیلینازها را در *اسینتوباکتر* جداشده از بیمارستان شهید محمدی بندرعباس بررسی نماییم.

روش بررسی

الف) جمع‌آوری نمونه‌های بالینی: مطالعه‌ی حاضر به صورت توصیفی- مقطعی بوده که درطی فروردین تا آذرماه ۱۳۹۳ تعداد ۷۶ ایزوله‌ی اسینتوباکتر، از بیمارستان شهید محمدی شهر بندرعباس جمع‌آوری شد. این باکتری‌ها از نمونه‌های بالینی مختلف نظیر زخم، خلط، ترشحات لوله تراشه، ادرار، خون و مایع مغزی نخاعی و سایرترشحات بدن از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان جدا شده بودند.

ب) شناسایی و تایید ایزوله‌های *اسینتوباکتر* **جمع‌آوری شده:** برای هر ایزوله، کشت یک شبه درمحیط مولرهینتون آگار تهیه شد. به‌منظور دیدن کوکوباسیل‌های گرم متغیر، رنگ آمیزی گرم انجام گرفت. برای شناسایی در حد جنس اسینتوباکتر، ازآزمایشات مختلف بیوشیمیایی از جمله تست اکسیداز (منفی)، اندول (منفی) و بی‌حرکت بودن در محیط SIM، عدم تخمیر قندها در محیط TSI(Triple Sugar Iron Agar)، رشد در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و ذوب ژلاتین انجام شد (۲۳). اسینتوباکترها پس از شناسایی، در محیط تریپتیکاز سوی براث حاوی ۱۵ درصد گلیسرول کشت و سپس روی پرل‌های شیشه‌ای، در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور تشخیص گونه *اسینتوباکتربامانی*، از روش PCR برای تکثیر ژن $bla_{\text{oxa-51}}$ استفاده شد.

ج) استخراج DNA: حدود ۶ کلونی از کشت ۲۴ساعته باکتری، به لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری که حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از بافر TE است، منتقل و آنرا ورتکس کرده تا سوسپانسیون یکنواختی به‌دست آید. سپس این نمونه‌ها را در ۸۰۰۰rpm (دور بر دقیقه)، به‌مدت ۸ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی را خالی کرده و مجددا با۲۰۰ میکرولیترآب مقطر، مخلوط و هموژن کرده و مجددا درهمان دور، و زمان سانتریفوژ نمودیم. سپس سوسپانسیون باکتری را، به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری آب جوش و ۱۰ دقیقه در یخ قراردادیم. مرحله انجماد و ذوب ۲ مرتبه تکرار شد. آنگاه سوسپانسیون در ۸۰۰۰ rpm (دور بر دقیقه)، به‌مدت ۴ دقیقه سانتریفوژ شد و محلول رویی آنرا در لوله‌های اپندورف نیم میلی‌لیتری استریل، تقسیم کرده و تا زمان انجام PCR، در۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۴).

د) انجام مولتی‌پلکس PCR: جهت شناسایی ژن‌های $bla_{\text{OXA-51}}$ $bla_{\text{OXA-58}}$, $bla_{\text{OXA-24}}$, $bla_{\text{OXA-23}}$, $bla_{\text{OXA-143}}$ پرایمرهای استفاده شده جهت تشخیص ژن‌های, $bla_{\text{OXA-58}}$ $bla_{\text{OXA-24}}$ $bla_{\text{OXA-23}}$ $bla_{\text{OXA-51}}$ $bla_{\text{OXA-143}}$ در جدول ۱ نشان داده شده است.

مولتی پلکس PCR برای ژن‌های اگزاسیلیناز، مطابق با روش توصیف شده توسط هیگینز و ودفورد (۲۶و۲۵)، در دمای آنلینگ ۵۳ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه انجام شد. از *اسینتوباکتربامانی* سویه COL 20820 به‌عنوان سویه کنترل استفاده شد و یک نمونه از محصولات PCR برای تایید نهایی توالی یابی شد.

جدول ۱: پرایمرهای استفاده شده جهت تشخیص ژن‌های ***bla OXA-143, blaOXA-23 blaOXA-24 blaOXA-58, blaOXA-51***

نام ژن	توالی نوکلئوتیدی	اندازه محصول
*bla*OXA-23 F	GAT CGG ATT GGA GAA CCAGA	۵۰۱ جفت باز
*bla*OXA-23 R	ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT	
*bla*OXA-24 F	GGT TAG TTG GCC CCC TTA AA	۲۴۶ جفت باز
*bla*OXA-24 R	AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT	
*bla*OXA-58 F	AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG	۵۹۹ جفت باز
*bla*OXA-58 R	CCCCTCTGCGCTCTACATAC	
*bla*OXA-51-F	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	۳۵۳جفت باز
*bla*OXA-51-R	TGGATTGCACTTCATCTTGG	
*bla*OXA-143-F	TGGCACTTTCAGCAGTTCCT	۱۴۹جفت باز
bla OXA-143-R	TAATCTTGAGGGGGCCAACC	

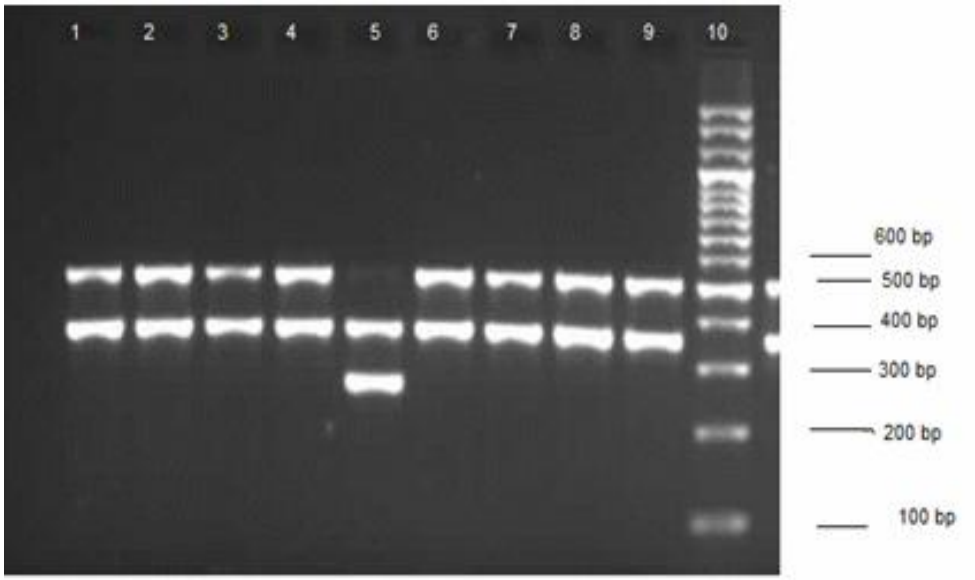
د) تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به‌روش دیسک دیفیوژن:

حساسیت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، به‌روش دیسک دیفیوژن یا انتشار در آگار بررسی شد (۲۷). دیسک‌های آنتی‌بیوتیک شامل ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم، IPM)، مروپنم (۱۰ میکروگرم، MEN)، پیپراسیلین (۱۰۰ میکروگرم، PIP)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم، CRO)، تیکارسیلین (۷۵ میکروگرم، TIC)، دوکسی سیلین (۳۰ میکرو، D)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم، GM)، سیپروفلوکسازین (۵ میکروگرم، CIP)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم، AN)، سفپیم (۳۰ میکروگرم، CPM)، سفوتاکسیم (۱۰ میکروگرم، CTX)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم، CAZ)، از شرکت MAST خریداری گردید. از سویه استاندارد *سودوموناس آئروژینوزا* ATCC 27853 به‌عنوان کنترل کیفیت دیسک‌ها استفاده شد. جهت ورود اطلاعات و تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS و تست آماری کای اسکوئر استفاده شد.

نتایج

از ۷۶ اسینتوباکتر، ۷۲ ایزوله (۹۴/۷ درصد) دارای ژن *bla* OXA-51 بودند که به‌عنوان *اسینتوباکتر بامانی* شناسایی شدند. ۴۹ ایزوله (۶۸/۰۵ درصد) از بیماران بخش مراقبت‌های ویژه بودند. از بخش جراحی ۳(۴/۲ درصد) و از بخش‌های سوختگی، اورژانس، داخلی، توراکس و ارتوپدی هرکدام ۲(۲/۸ درصد) و از بخش‌های گوش و حلق و بینی و مراقبت‌های ویژه قلبی عروقی ۱ ایزوله (۱/۴ درصد) جداسازی شد. ۳۷ ایزوله (۵۱/۴ درصد) از ترشحات ریه و ۱۱ ایزوله (۱۵/۳ درصد) از زخم، ۷ نمونه (۹/۷ درصد) از خلط و ۴ ایزوله (۵/۵ درصد) از ادرار ۴ ایزوله (۵/۵ درصد) از سایر مایعات بدن، ۱ ایزوله (۱/۴ درصد) از خون بیماران جداسازی شد. ۷ نمونه هم با منشاء نامشخص بودند. بیشترین مقاومت به سفوتاکسیم ۷۱ (۹۸/۶ درصد) و سپس به سفپیم، سفتریاکسون، سفتازیدیم، مروپنم، سیپروفلوکسازین و جنتامایسین ۷۰ (۹۷/۲ درصد) و سپس به پیپراسیلین و تیکارسیلین ۶۹ (۹۵/۸ درصد) و ایمی‌پنم ۶۱ (۸۴/۷ درصد) و آمیکاسین ۵۸ (۸۰/۵ درصد) و دوکسی سیکلین ۴۳ (۵۹/۷ درصد) مشاهده شد. تعداد ۶۳ ایزوله (۸۷/۵ درصد) دارای ژن *bla* oxa-23, ۷ ایزوله (۹/۷ درصد) حاوی ژن *bla* OXA-24 و هیچ ایزوله‌ای حامل ژن‌های *bla* OXA-58 و *bla* OXA-143 نبودند. از ۶۱ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم، ۵۵ ایزوله (۹۰/۱۶ درصد) واجد ژن *bla* oxa-23 بودند. یک ایزوله واجد هر دو ژن *bla* oxa-23 و *bla* OXA-24 بود.

از ۷۰ ایزوله مقاوم به مروپنم، ۶۲ ایزوله (۸۸/۵۷ درصد) دارای ژن bla_{oxa-23}, و یک ایزوله (۱/۴۳ درصد) به‌طور همزمان دارای ژن‌های bla_{oxa-23} و bla_{OXA-24} در ۶۱ ایزوله که به‌طور هم زمان به مروپنم و ایمی‌پنم مقاوم بودند ۵۵ ایزوله (۹۰/۱۶ درصد) فقط حاوی bla_{oxa-23} بودند و یک ایزوله (۱/۶۳ درصد) به‌طور همزمان هردو ژن bla_{oxa-23} و bla_{OXA-24} را داشتند. در دو سویه که به جز ژن bla_{OXA-51} *حامل* ژن اگزاسیلینازی دیگری نبودند، مقاومت به مروپنم مشاهده شد. شکل ۱ واکنش Multiplex PCR برای ژن‌های bla_{OXA-51}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-58} bla_{OXA-23} $bla_{OXA-143}$ و را نشان می‌دهد.



شکل ۱: واکنش Multiplex PCR برای ژن‌های $bla_{OXA-143}$ bla_{OXA-23} bla_{OXA-58}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-51}. چاهک شماره ۱ الی ۹ ژن‌های bla_{OXA-51} (۳۵۳جفت باز) و چاهک شماره ۵ bla_{OXA-24} (۲۴۶جفت باز)، و چاهک‌های ۱ تا ۴ و ۶ تا ۹ bla_{OXA-23} (۵۰۱جفت باز)، چاهک شماره ۱۰ نشان گر ۱۰۰جفت بازی رانشان می‌دهد.

بحث

گزارشات روزافزون از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *اسینتوباکتربامانی*، این باکتری را به‌عنوان یکی از عوامل مهم و خطرزا در عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه در بخش‌های مراقبت‌های ویژه در سراسر دنیا مطرح نموده است (۴و۱). در مطالعه‌ی ما نیز، *اسینتوباکتربامانی* در بخش مراقبت‌های ویژه و از نمونه ترشحات تنفسی به میزان بیشتری جداسازی شد که به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان عفونت‌های این باکتری به میزان بیش از ۵۹ درصد مقاومت داشت. جداسازی ژن bla_{oxa-51} روش آسان و قابل اعتمادی برای تمایز گونه بامانی از سایرگونه‌های اسینتوباکتر است (۲۸و۹). بررسی تورتون در سال ۲۰۰۶ میلادی، در ۱۷۰ ایزوله از اسینتوباکتر، ۱۰۶ ایزوله (۶۲/۳ درصد) را به روش ARDRA به‌عنوان *اسینتوباکتر بامانی* شناسایی کرد که در همه‌ی این ایزوله‌ها، ژن bla_{oxa-51} وجود داشتند (۹). فراوانی *اسینتوباکتر بامانی* از طریق شناسایی ژن bla_{oxa-51} در مطالعات مختلف در ایران از ۸۴/۳۷ درصد در درسال ۲۰۰۸ میلادی (۲۹)، تا ۹۳/۸۹ درصد در سال ۲۰۱۲ میلادی ذکر شده است (۳۰). مطالعه‌ی حاضر درصد بیشتری را از سایر مطالعات در ایران نشان داده است. گزارشات مختلفی ازسراسر دنیا نشانگر افزایش رخداد

مقاومت به کرباپنم در *اسینتوباکتربامانی* است.انواع متعـددی از *اسینتوباکتر بامانی* مقاوم به کربـاپنم، از بیمارسـتان‌هـای شـمال اروپـا ماننـد اسـپانیا، پرتقـال، فرانـسه و انگلـیس و ایرلنـد و جمهوری چک و لهستان و اروپای شرقی و خاورمیانه گزارش شده است. این میزان در بلغارستان از ۸ درصد در سـال ۲۰۰۳ میلادی به ۵۲ تـا ۷۴ درصـد در سـال ۲۰۰۵تـا۲۰۰۶ مـیلادی رسیده است (۳۱). در ایران، ۴۹/۳ درصد مقاومت به ایمی‌پـنم و۵۰ درصد مقاومت به مروپنم در سال ۲۰۰۸ میلادی (۲۹)، تا ۶۷/۴۷ درصد مقاومت به ایمی‌پنم و ۸۴/۵۵ درصد مقاومت به مروپنم در سال ۲۰۱۲ میلادی (۳۰) و ۹۲ درصد مقاومـت بـه ایمی‌پنم در سال ۲۰۱۲ در بیماران بخـش سـوختگی گـزارش شده است (۳۲). مطالعات مختلف، انتشار گسترده ی گونه‌های مقاوم به کرباپنم حامل ژن‌های اگزاسیلینازها را در سرتاسر دنیا نشان داده است، گرچه تفاوت‌های جغرافیایی قابل ملاحظـه‌ای در نوع کلاس D بتالاکتامازهـای هیـدرولیز کننـده ی کربـاپنم وجود دارد. مندوز و همکاران در طی سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۷ میلادی، از ٤١ مرکـز پزشـکی مـستقر در ۱۰ کـشور، ژن‌هـای کرباپنمازی کلاس D را در۷۰ درصد سویه‌ها یافتند کـه در آن میـان ژن *bla* oxa-23-like شـایع‌تربـود و ۹۵ درصـد ژن‌هـای کدکننده کرباپنمـاز کـلاس D را شـامل مـی‌شـد. بـه‌دنبـال آن *bla*oxa-58 در ۱۱/۹ درصـــد و *bla*0xa-24/40 در ۵/٦ درصـــد ازایزوله‌ها شناسـایی گردیـد (۳۳). در ایـالات متحـده درسـال ۲۰۰۹ میلادی، ۱۳ درصد در ایزوله‌های مقـاوم بـه ایمـی‌پـنم، حامل ژن *bla* oxa-23 بودند در این ایزولـه‌هـا، سـایر ژن‌هـای کرباپنمـــازی *bla*oxa-24 و *bla*oxa-58یافـــت نـــشد (٣٤).

نتیجه گیری

مطالعات نقاط مختلف دنیا تفاوت‌های جغرافیـایی زیـادی را در اپیدمیولوژی مولکـولی ژن‌هـای کرباپنمـازی نـشان داده است. مطالعه‌ی ما، کاهش حساسیت *اسینتوباکتربامانی* به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس جهت درمـان عفونـت‌هـای ایـن باکتری را نشان داده است. از ٦١ سویه‌ی مقاوم به ایمی‌پـنم و مروپنم، ۵۵ نمونه (۹۰/١٦ درصد) فقط حامـل ژن *bla* oxa-23 بودند. بنابراین، شـیوع بـالای ایـن کرباپنمـاز را در میـان ایـن ایزوله‌ها می‌توان مسوول مقاومت به کرباپنم‌های مورد بررسـی دانـست. بـه‌طـوری کـه ارتبـاط معنـی‌داری بـین حـضور ژن *bla OXA-23* و مقاومت به مروپنم (P=۰/۰۰۰۰۰۷) و همچنین مقاومت به ایمی‌پنم (P=۰/۰۰۲۶) به‌دست آمـد. مقاومـت بـه مروپنم در در دو سویه که به جـز ژن *bla* OXA-51 *حامـل* ژن اگزاسیلینازی دیگری نبودنـد، نـشانگر نقـش عوامـل دیگـری همچون حضور سکانس‌های الحاقی در ژن مورد بررسـی ویـا عوامـل کرباپنمـازی دیگرهمچـون حـضور متالوبتالاکتامازهـا می‌باشد که پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینـده مـورد بررسـی قرارگیرد.

تقدیر و تشکر

منـابع مـالی پـروژه‌ی تحقیقـاتی حاضـر توسـط معاونـت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان تامین شده است. همچنین از سرکار خانم مریم انصاری کارشناس بخـش میکروب‌شناسی بیمارستان شهید محمـدی بنـدرعباس کـه در جمع‌آوری نمونه همکاری کرده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008; 21: 538-82.

2- Bouvet, P. J. M., P. A. D. Grimont. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii sp*. nov. *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov. *Acinetobacter johnsonii sp*. nov. and *Acinetobacter junii* sp. nov. and

emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwofii*. *Int J Syst Bacterio*. 1986; 2: 228-240.

3- Roca I, Espinal P, Vila-Farres X, Vila J. The *Acinetobacter baumannii Oxymoron*: Commensal hospital dweller turned pan-drug-resistant menace. *Front Microbiol*. 2012; 3: 148: 1-30.

4- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18: 268-81.

5- Espinal P, Marti S, Vila J. Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Hosp Infect*. 2012; 56-60.

6- Camp C, Tatum OL. Review of *Acinetobacterbaumannii* as a highly successful pathogen in times of war. *Lab Med*. 2010; 41: 649-57.

7- Opazo A, Dominguez M, Bello H, Amyes SG, Gonzalez-Rocha G. OXA-type carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* in South America. *J Infect Dev Ctries*. 2012; 6: 311-6.

8- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54: 969-76.

9- Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol*. 2006; 44: 2974-6.

10- Heritier C, Poirel L, Fournier PE, Claverie JM, Raoult D, Nordmann P. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 4174-9.

11- Turton JF, Ward ME, Woodford N, et al. The role of ISAba1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett*. 2006; 258: 72-7.

12- Zhao WH, Hu ZQ. *Acinetobacter*: a potential reservoir and dispenser for beta-lactamases. *Crit Rev Microbiol*. 2012; 38: 30-51.

13- Paton R, Miles RS, Hood J, Amyes SG. ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents*. 1993; 2: 81-7.

14- Bonnet R, Marchandin H, Chanal C, Sirot D, Labia R, De Champs C. Chromosome- encoded class D beta-lactamase OXA-23 in *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46: 2004-6.

15- Bou G, Oliver A, Martinez-Beltran J. OXA-24, a novel class D beta-lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44: 1556-61.

16- Poirel L, Marque S, Heritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a novel class D {beta}-lactamase involved in resistance to

carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 202-8.

17- Marque S, Poirel L, Heritier C, Brisse S, Blasco MD, Filip R. Regional occurrence of plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-58 in *Acinetobacter spp*. in Europe. *J Clin Microbiol*. 2005; 43: 4885-8.

18- Peleg AY, Franklin C, Walters LJ, Bell JM, Spelman DW. OXA-58 and IMP-4 carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases in an *Acinetobacter junii* blood culture isolate from Australia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50: 399-400.

19- Lin YC, Hsia KC, Chen YC, Sheng WH, Chang SC, Liao MH. Genetic basis of multidrug resistance in *Acinetobacter* clinical isolates in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54: 2078-84.

20- D'Arezzo S, Capone A, Petrosillo N, Visca P, Ballardini M, Bartolini S. Epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* related to European clonal types I and II in Rome (Italy). *Clin Microbiol Infect*. 2009; 15: 347-57.

21- Papa A, Koulourida V, Souliou E. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a newly established Greek hospital. *Microb Drug Resist*. 2009; 15: 257-60.

22- Poirel L, Lebessi E, Heritier C, Patsoura A, Foustoukou M, Nordmann P. Nosocomial spread of OXA-58-positive carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in a paediatric hospital in Greece. *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12: 1138-41.

23- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH. Manual of clinical microbiology, 8th Edition. 2 vols. Washington DC: ASM Press, 2003.

24- Andriamanantena TS, Ratsima E, Rakotonirina HC, Randrianirina F, Ramparany L, Carod JF. Dissemination of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in various hospitals of Antananarivo Madagascar. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2010; 9: 2-6.

25- Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter spp*. *Int J Antimicrob Agents*. 2006; 27: 351-3.

26- Paul G. H, Marlene L, Harald S. Inclusion of OXA-143 primers in a multiplex polymerase chain reaction (PCR) for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter spp*. *Int J Antimicrob Agents*. 2010; 35: 305.

27- Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobil susceptibility testing; twentieth informational supplement. document M100-S20, CLSI : Wayne, PA,USA. 2010.

28- Andrea KM, Daniela C. blaOXA-51-type β-lactamase genes are ubiquitous and vary within a strain in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicron Ag*. 2006; 110-113.

29- Feizabadi MM, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, Rasoolinejad M, Sadeghifard N,

Aligholi M. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of *bla*OXA genes among *Acinetobacter spp*. Isolated from patients at Tehran hospitals. *Jpn J Infect Dis*. 2008; 61: 274-8.

30- Karmostaji A, Najar PS, Salmanian AH, 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: 1-5.

31- Stoeva T, Higgins PG, Savov E, Markovska R, Mitov I, Seifert H. Nosocomial spread of OXA-23 and OXA-58 beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a Bulgarian hospital. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 63: 618-20.

32- Ardebili A, Azimi L, Mohammadi-Barzelighi H, et al. Determination of resistance pattern of isolated *Acinetobacter baumannii* from hospitalized burned patients in motahari hospital, tehran. *J Zanjan Unive Med Sci*. 2012; 20: 112-119.

33- Mendes RE, Bell JM, Turnidge JD, Castanheira M, Jones RN. Emergence and widespread dissemination of OXA-23, -24/40 and -58 carbapenemases among *Acinetobacter spp*. in Asia- Pacific nations: report from the SENTRY Surveillance Program. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 63: 55-9.

34- Srinivasan VB, Rajamohan G, Pancholi P, Stevenson K, Tadesse D, Patchanee P. Genetic relatedness and molecular characterization of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in central Ohio, USA. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2009; 8: 1-10.

Evaluation of Oxacillinase Genes among Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* in Shahid Mohammadi Hospital of Bandar abbas, Iran in 2014-2015

Bahadori azimabadi F[1], karmostaji A[2]

[1]Dept .of Microbiology,Faculty of Science, Azad University, Shiraz, Iran

[2]Infectious and Tropical Diseases Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

Corresponding Author: Karmostaji A, Infectious and Tropical Diseases Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

E-mail: Afsanehkk@yahoo.com

Received: 15 Jan 2015 **Accepted:** 12 Jul 2015

***Background and Objective*:** Acinetobacter baumannii is considered as an important agent in nosocomial infections. The problem facing the tratment of these bacteria is increasing resistance to antimicrobial agents such as carbapenems. The main mechanism of resistance to carbapenems in these bacteria is the presence of oxacillinases genes, which belong to class D betalactamases. The aim of this study was molecular diagnosis of Acinetobacter baumannii and antimicrobial resistance pattern of these bacteria to antibiotics including imipenem and meropenem.

***Materials and Methods*:** Genus and species of clinical isolates of *Acinetobacter* were identified via biochemical tests and PCR method respectively. Their susceptibily to imipenem and meropenem were determined by disk diffusion method. In order to identify carbapenem resistant genes (oxacillinases), multiplex PCR was used.

Results: 76 of 72 (94.7%) *Acinetobacter* species, possessed *bla* $_{oxa-51}$-like gene and were identified as *A.baumannii*. Sixty one (84.7%) of isolates were resistant to imipenem and 70(97.2%) were resistant to meropenem. Out of 76 isolates, 63 (87.5%) had an acquired *bla* $_{oxa-23}$like carbapenemase, 7 (9.7%%) possessed *bla* $_{oxa-24}$-like carbapenemase. None of the isolats contained either *bla* $_{oxa-58}$ or *bla* $_{oxa-143}$ carbapenemase.

***Conclusions*:** It appears that cabapenem overutilization causes a selective pressure resulting in the emergence of antibiotic- resistant isolates. This study indicated that, the presence of *bla* $_{oxa-23}$ genes was significantly associated with the occurrence of resistance to carbapenems. So, investigation of antibiotic resistance genes in *A. baumannii* is necessary to control further dissemination of these resistance genes.

Keywords: Acinetobacter baumannii, Carbapenemase, Antibiotic resistant