

بررسی ژن‌های اگزاسیلیناز در ایزوله‌های بالینی اسیتوباکتریامانی مقاوم به کرباپنم در بیمارستان شهید محمدی بندرعباس در سال ۱۳۹۳ فهیمة بهادری عظیم آبادی^۱، دکتر افسانه کرمستجی^۲

نویسنده‌ی مسول: بندرعباس، بیمارستان شهید محمدی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان Afsanehkk@yahoo.com
دریافت: ۹۳/۱۰/۲۵ پذیرش: ۹۴/۴/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: اسیتوباکتر 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. یکی از عوامل اصلی مقاومت به کرباپنم‌ها، اگزاسیلینازهای متعلق به گروه D بتالاکتامازها (OXA-type) هستند. هدف از این مطالعه تشخیص مولکولی اسیتوباکتر بامانی، سنجش مقاومت به کرباپنم‌ها شامل ایمپی‌پنم و مروپنم و بررسی حضور ژن‌های مقاومت به کرباپنم‌ها در میان این ایزوله‌ها می‌باشد.

روش بررسی: ایزوله‌های بالینی اسیتوباکتر با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی تا حد جنس، و با تکنیک PCR با شناسایی ژن bla OXA-51 گونه اسیتوباکتر بامانی شناسایی شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای ایمپی‌پنم و مروپنم به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. به منظور شناسایی ژن‌های مقاومت به کرباپنم‌ها (اگزاسیلینازها) روش multiplex PCR انجام شد.

یافته‌ها: از ۷۶ اسیتوباکتر، ۷۲ ایزوله (۹۴٪ درصد) که دارای ژن bla OXA-51 بودند، به عنوان اسیتوباکتر بامانی شناسایی شدند. میزان مقاومت این ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ایمپی‌پنم و مروپنم به ترتیب ۶۱ (۸۴٪ درصد) و ۷۰ (۹۷٪ درصد) بود. تعداد ۶۳ (۸۷٪ درصد) از ایزوله‌ها حامل ژن bla OXA-23 و تعداد ۷ (۹٪ درصد) از ایزوله حامل ژن bla OXA-24 بودند و ژن‌های bla OXA-58 و bla OXA-143 در هیچ یک از ایزوله‌ها یافت نشد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که استفاده بی‌رویه از کرباپنم‌ها در درمان، فشار انتخابی برای ایجاد ایزوله‌های مقاوم را به وجود 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.

واژگان کلیدی: اسیتوباکتر بامانی، کرباپنماز، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه

اسیتوباکتر، باکتری گرم منفی، هوازی اجباری، بی‌حرکت، اکسیداز منفی، غیر تخمیر کننده، اندول منفی، کاتالاز مثبت و دارای همولیز و قادر به استفاده از انواع منابع غذایی است (۱).
روش‌های آزمایشگاهی مبتنی بر خواص بیوشیمیایی و فنوتیپی، گرچه جنس اسیتوباکتر را مشخص می‌سازد ولی قادر به تمایز گونه‌های مختلف نیست (۱ و ۲). در نتیجه از روش مولکولی

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

است که شامل گروه‌های *bla*OXA-51/69 و چهارشاخه از آنزیم‌های اکتسابی OXA-143 و OXA-23، OXA-24/40، OXA-58 است، که در هر یک، انواع آنزیم‌ها با سکانس‌های مختلف موجود است. آگراسیلیناز *bla*OXA-51 به‌طور طبیعی فقط در گونه‌ی اسیتوباکتر بامانی موجود است (۹) و فقط سبب هیدرولیز ضعیف سوبسترای بتالاکتامی پنی‌سیلین‌ها و کرباپنم‌ها می‌شود (۱۰). مگر این که عناصر الحاقی *ISAbal* یا *ISAbag9* در بالا دست ژن‌های *bla*OXA-51-like قرار گرفته باشد، تا سبب افزایش بیان این ژن‌ها شوند (۱۱). بیش از ۶۸ واریته از سکانس‌های مختلف از *bla*OXA-51 را به‌عنوان آنزیم‌های کلاس D طبقه‌بندی کرده‌اند (۱۲). اولین آگراسیلیناز با فعالیت کرباپنمازی که در سال ۱۹۹۳ میلادی گزارش شد آنزیم *bla*OXA-23 بود، که در ابتدا *ARI-I* نامیده شد و در پلاسמיד اسیتوباکتر بامانی، در اسکاتلند شناسایی شد (۱۳). پس از آن ژن *bla*OXA-23 در سرتاسر دنیا، هم روی کروموزوم و هم روی پلاسמיד شناسایی شد و ظاهراً به جز یک استثنا منحصر به جنس اسیتوباکتر است (۱۴). دسته دوم از آنزیم‌های کلاس D، به‌نام OXA-24/40 هستند، که ابتدا از کروموزوم ایزوله‌های اسیتوباکتر بامانی مقاوم به کرباپنم در اسپانیا جداسازی شد (۱۵). کلاس سوم از کرباپنمازهای گروه D، OXA-58 نامیده می‌شوند (۱۶). ژن *bla*OXA-58 تاکنون، فقط در گونه‌های اسیتوباکتر یافت شده و در اسیتوباکتر جونی در رومانی و استرالیا (۱۷ و ۱۸) و در اسیتوباکتر نوزوکومیالیس در تایوان 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 (۲۰ و ۲۱). در یونان شیوع سویه‌های اسیتوباکتر 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 در درمان عفونت با این باکتری در

شناسایی ژن *bla*OXA-51 برای شناسایی گونه‌ی غالب در عفونت‌های بیمارستانی، یعنی اسیتوباکتر بامانی استفاده می‌شود (۱۳). مهم‌ترین مشکل فراروی سیستم بهداشتی و درمانی و بیمارستان‌ها در مورد این باکتری، رخداد گونه‌های مقاوم چند دارویی در اسیتوباکتر بامانی است. اسیتوباکتر 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 (۴). در سال ۲۰۰۴ مرکز کنترل بیماری‌های آمریکا (CDC) گونه اسیتوباکتر بامانی را عامل حدود ۸۰ درصد از عفونت‌های اسیتوباکتر برشمرد. اهمیت بالینی این باکتری به‌ویژه در طی سال‌های اخیر، با توانایی کسب شاخص‌های مقاومت، درمان‌های آنتی‌بیوتیکی را با تهدید جدی مواجه ساخته است (۵). پنومونی بیمارستانی، شایع‌ترین عفونت ایجاد شده توسط این میکروارگانیسم است. البته اخیراً گزارشاتی از عفونت‌های درگیر کننده‌ی سیستم عصبی، پوست و بافت نرم و عفونت‌های استخوانی نیز در برخی بیمارستان‌ها گزارش شده است (۶). افزایش مقاومت به کرباپنم‌ها به‌عنوان درمان انتخابی عفونت‌های ناشی از اسیتوباکتر بامانی، درمان را با محدودیت جدی مواجه ساخته است (۷). در مقاومت به این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی 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 اسیتوباکتر بامانی، تولید بتالاکتام‌های کد شده به‌صورت کروموزومی و یا پلاسمیدی است که در طبقه‌بندی آمبلر در کلاس D قرار گرفته و آن‌ها را به‌نام آگراسیلینازها می‌شناسیم (۷). آگراسیلینازها در گونه‌های اسیتوباکتر، 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 قرار گرفته‌اند (۸). تاکنون پنج زیرگروه از بتالاکتام‌های گروه D در اسیتوباکتر بامانی، شناخته شده

*bla*_{oxa-51} برای تکثیر ژن PCR از روش *اسیتوباکتریامانی*، استفاده شد.

ج) استخراج DNA: حدود ۶ کلونی از کشت ۲۴ ساعته باکتری، به لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری که حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از بافر TE است، منتقل و آنرا ورتکس کرده تا سوسپانسیون یکنواختی به دست آید. سپس این نمونه‌ها را در ۸۰۰۰ rpm (دور بر دقیقه)، به مدت ۸ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی را خالی کرده و مجدداً با ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر، مخلوط و هموژن کرده و مجدداً در همان دور، و زمان سانتریفوژ نمودیم. سپس سوسپانسیون باکتری را، به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری آب جوش و ۱۰ دقیقه در یخ قرار دادیم. مرحله انجماد و ذوب ۲ مرتبه تکرار شد. آنگاه سوسپانسیون در ۸۰۰۰ rpm (دور بر دقیقه)، به مدت ۴ دقیقه سانتریفوژ شد و محلول رویی آنرا در لوله‌های اپندورف نیم میلی‌لیتری استریل، تقسیم کرده و تا زمان انجام PCR، در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۴).

د) انجام مولتی‌پلکس PCR: جهت شناسایی ژن‌های *bla*_{oxa-51}، *bla*_{oxa-58}، *bla*_{oxa-24}، *bla*_{oxa-23}، *bla*_{oxa-143} پرایمرهای استفاده شده جهت تشخیص ژن‌های *bla*_{oxa-51}، *bla*_{oxa-23}، *bla*_{oxa-24}، *bla*_{oxa-58}، *bla*_{oxa-143} در جدول ۱ نشان داده شده است.

مولتی‌پلکس PCR برای ژن‌های آگراسیلیناز، مطابق با روش توصیف شده توسط هیگینز و ودفورد (۲۶ و ۲۵)، در دمای آنلینگ ۵۳ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه انجام شد. از *اسیتوباکتریامانی* سویه COL 20820 به عنوان سویه کنترل استفاده شد و یک نمونه از محصولات PCR برای تایید نهایی توالی یابی شد.

بیماران بستری در بیمارستان وجود دارد، بر آن شدیم تا در مطالعه‌ی حاضر، علاوه بر تشخیص گونه‌ی *اسیتوباکتریامانی*، الگوی مقاومت این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان، به ویژه کرباپنم‌ها را به دست آورده و شیوع سویه‌های مقاوم به کرباپنم و ژن‌های کرباپنمازی از گروه آگراسیلینازها را در *اسیتوباکتریامانی* جدا شده از بیمارستان شهید محمدی بندرعباس بررسی نماییم.

روش بررسی

الف) جمع‌آوری نمونه‌های بالینی: مطالعه‌ی حاضر به صورت توصیفی - مقطعی بوده که در طی فروردین تا آذرماه ۱۳۹۳ تعداد ۷۶ ایزوله‌ی *اسیتوباکتریامانی* 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 سایر ترشحات بدن از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان جدا شده بودند.

ب) شناسایی و تایید ایزوله‌های *اسیتوباکتریامانی* جمع‌آوری شده: برای هر ایزوله، کشت یک شبه در محیط مولر هیتون آگار تهیه شد. به منظور دیدن کوکوباسیل‌های گرم متغیر، رنگ آمیزی گرم انجام گرفت. برای شناسایی در حد جنس *اسیتوباکتریامانی*، آزمایشات 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 درجه سانتی‌گراد و ذوب ژلاتین انجام شد (۲۳). *اسیتوباکتریامانی* پس از شناسایی، در محیط تریپتیکاز سوی برات حاوی ۱۵ درصد گلیسرول کشت و سپس روی پرل‌های شیشه‌ای، در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور تشخیص گونه

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

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

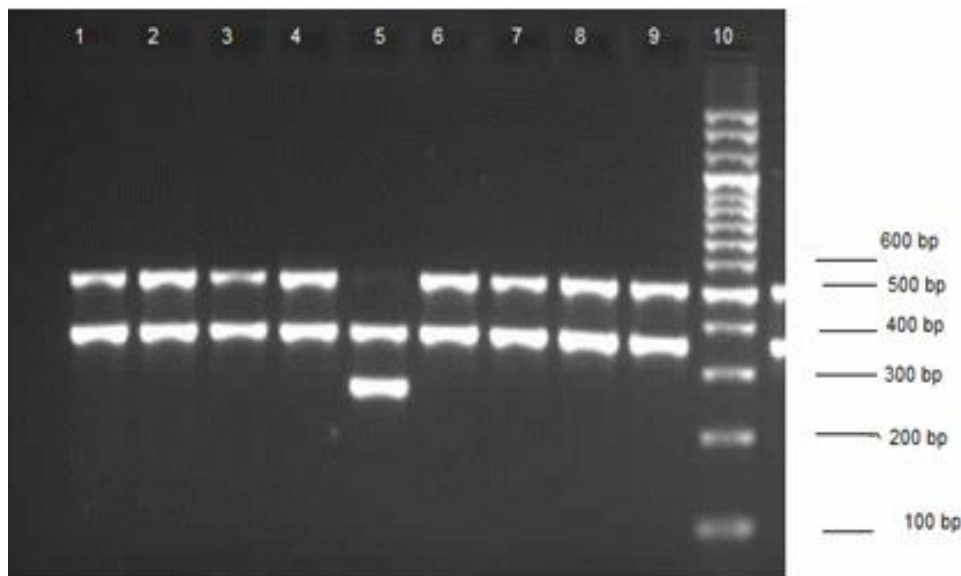
ویژه بودند. از بخش جراحی ۳ (۴/۲ درصد) و از بخش‌های سوختگی، اورژانس، داخلی، توراکی و ارتوپدی هر کدام ۲ (۲/۸ درصد) و از بخش‌های گوش و حلق و بینی و مراقبت‌های ویژه قلبی عروقی ۱ ایزوله (۱/۴ درصد) جداسازی شد. ۳۷ ایزوله (۵۱/۴ درصد) از ترشحات ریه و ۱۱ ایزوله (۱۵/۳ درصد) از زخم، ۷ نمونه (۹/۷ درصد) از خلط و ۴ 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 سفیم، سفتریاکسون، سفنازیدیم، مروپنم، سیپروفلوکسازین و جنتامایسین ۷۰ (۹۷/۲ درصد) و سپس به پیراسیلین و تیکارسیلین ۶۹ (۹۵/۸ درصد) و ایمپنم ۶۱ (۸۴/۷ درصد) و آمیکاسین ۵۸ (۸۰/۵ درصد) و دوکسی‌سیکلین 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 ایمپنم، 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.

د) تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن: حساسیت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، به روش دیسک دیفیوژن یا انتشار در آگار بررسی شد (۲۷). دیسک‌های آنتی‌بیوتیک شامل ایمپنم (۱۰ میکروگرم، IPM)، مروپنم (۱۰ میکروگرم، MEN)، پیراسیلین (۱۰۰ میکروگرم، PIP)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم، CRO)، تیکارسیلین (۷۵ میکروگرم، TIC)، دوکسی‌سیلین (۳۰ میکرو، D)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم، GM)، سیپروفلوکسازین (۵ میکروگرم، CIP)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم، AN)، سفیم (۳۰ میکروگرم، CPM)، سفوتاکسیم (۱۰ میکروگرم، CTX)، سفنازیدیم (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 اسکور استفاده شد.

یافته‌ها

از ۷۶ اسیتوباکتر، ۷۲ ایزوله (۹۴/۷ درصد) دارای ژن *bla*_{OXA-51} بودند که به‌عنوان اسیتوباکتر بامانی شناسایی شدند. ۴۹ ایزوله (۶۸/۰۵ درصد) از بیماران بخش مراقبت‌های

از ۷۰ ایزوله مقاوم به مروپنم، ۶۲ ایزوله (۸۸/۵۷ درصد) دارای ژن *bla*_{oxa-23}، و یک ایزوله (۱/۴۳ درصد) به طور همزمان دارای ژن های *bla*_{oxa-23} و *bla*_{OXA-24} در ۶۱ ایزوله که به طور هم زمان به مروپنم و ایمپنم مقاوم بودند ۵۵ ایزوله (۹۰/۱۶ درصد) فقط حاوی *bla*_{oxa-23} بودند و یک ایزوله (۱/۶۳ درصد) به طور همزمان هر دو ژن *bla*_{oxa-23} و *bla*_{OXA-24} را داشتند. در دو سویه که به جز ژن *bla*_{OXA-51} حامل ژن آگراسیلینازی دیگری نبودند، مقاومت به مروپنم مشاهده شد. شکل ۱ واکنش Multiplex PCR برای ژن های *bla*_{OXA-51}، *bla*_{OXA-24}، *bla*_{OXA-58}، *bla*_{OXA-143} و *bla*_{OXA-23} را نشان می دهد.



شکل ۱: واکنش Multiplex PCR برای ژن های *bla*_{OXA-143}، *bla*_{OXA-23}، *bla*_{OXA-58}، *bla*_{OXA-24}، *bla*_{OXA-51} چاهک شماره ۱ الی ۹ ژن های *bla*_{OXA-51} (۳۵۳ جفت باز) و چاهک شماره ۲ (۲۴۶ جفت باز)، و چاهک های ۱ تا ۶ تا ۹ *bla*_{OXA-23} (۵۰۱ جفت باز)، چاهک شماره ۱۰ نشان گر ۱۰۰ جفت بازی را نشان می دهد.

بحث

بامانی از سایر گونه های اسیتوباکتر است (۲۸ و ۹). بررسی تورتون در سال ۲۰۰۶ میلادی، در ۱۷۰ ایزوله از اسیتوباکتر، ۱۰۶ ایزوله (۶۲/۳ درصد) را به روش ARDRA به عنوان اسیتوباکتر بامانی شناسایی کرد که در همه ی این ایزوله ها، ژن *bla*_{OXA-51} وجود داشتند (۹). فراوانی اسیتوباکتر بامانی از طریق شناسایی ژن *bla*_{OXA-51} در مطالعات مختلف در ایران از ۸۴/۳۷ درصد در سال ۲۰۰۸ میلادی (۲۹)، تا ۹۳/۸۹ درصد در سال ۲۰۱۲ میلادی ذکر شده است (۳۰). مطالعه ی حاضر درصد بیشتری را از سایر مطالعات در ایران نشان داده است. گزارشات مختلفی از سراسر دنیا نشانگر افزایش رخداد

گزارشات روزافزون از مقاومت آنتی بیوتیکی در اسیتوباکتر بامانی، این باکتری را به عنوان یکی از عوامل مهم و خطرزا در عفونت های بیمارستانی به ویژه در بخش های مراقبت های ویژه در سراسر دنیا مطرح نموده است (۴ و ۱). در مطالعه ی ما نیز، اسیتوباکتر بامانی در بخش مراقبت های ویژه و از نمونه ترشحات تنفسی به میزان بیشتری جداسازی شد که به اغلب آنتی بیوتیک های رایج در درمان عفونت های این باکتری به میزان بیش از ۵۹ درصد مقاومت داشت. جداسازی ژن *bla*_{OXA-51} روش آسان و قابل اعتمادی برای تمایز گونه

نتیجه گیری

مطالعات نقاط مختلف دنیا تفاوت‌های جغرافیایی زیادی را در اپیدمیولوژی مولکولی ژن‌های کرباپنمازی نشان داده است. مطالعه‌ی ما، کاهش حساسیت اسیتوباکتریامانی به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس جهت درمان عفونت‌های این باکتری را نشان داده است. از ۶۱ سویه‌ی مقاوم به ای‌می‌پنم و مروپنم، ۵۵ نمونه (۹۰/۱۶ درصد) فقط حامل ژن *bla*_{oxa-23} بودند. بنابراین، شیوع بالای این کرباپنماز را در میان این ایزوله‌ها می‌توان مسوول مقاومت به کرباپنم‌های مورد بررسی دانست. به‌طوری که ارتباط معنی‌داری بین حضور ژن *bla*_{oxa-23} و مقاومت به مروپنم ($P=۰/۰۰۰۰۰۷$) و همچنین مقاومت به ای‌می‌پنم ($P=۰/۰۰۰۲۶$) به‌دست آمد. مقاومت به مروپنم در دو سویه که به جز ژن *bla*_{oxa-51} حامل ژن اگزاسیلینازی دیگری نبودند، نشانگر نقش عوامل دیگری همچون حضور سکانس‌های الحاقی در ژن مورد بررسی و یا عوامل کرباپنمازی دیگر همچون حضور متالوبتالاکتامازها می‌باشد که پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده مورد بررسی قرارگیرد.

تقدیر و تشکر

منابع مالی پروژه‌ی تحقیقاتی حاضر توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان تامین شده است. همچنین از سرکار خانم مریم انصاری کارشناس بخش میکروبی‌شناسی بیمارستان شهید محمدی بندرعباس که 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.

مقاومت به کرباپنم در اسیتوباکتریامانی است. انواع متعددی از اسیتوباکتر بامانی مقاوم به کرباپنم، از بیمارستان‌های شمال اروپا مانند اسپانیا، پرتغال، فرانسه و انگلیس و ایرلند و جمهوری چک و لهستان و اروپای شرقی و خاورمیانه گزارش شده است. این میزان در بلغارستان از ۸ درصد در سال ۲۰۰۳ میلادی به ۵۲ تا ۷۴ درصد در سال ۲۰۰۵ تا ۲۰۰۶ میلادی رسیده است (۳۱). در ایران، ۴۹/۳ درصد مقاومت به ای‌می‌پنم و ۵۰ 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 مقاومت به ای‌می‌پنم در سال ۲۰۱۲ در بیماران بخش سوختگی گزارش شده است (۳۲). مطالعات مختلف، انتشار گسترده‌ی گونه‌های مقاوم به کرباپنم حامل ژن‌های اگزاسیلینازها را در سرتاسر دنیا نشان داده است، گرچه تفاوت‌های جغرافیایی قابل ملاحظه‌ای در نوع کلاس D بتالاکتامازهای هیدرولیز کننده‌ی کرباپنم وجود دارد. مندوز و همکاران در طی سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۷ میلادی، از ۴۱ مرکز پزشکی مستقر در ۱۰ کشور، ژن‌های کرباپنمازی کلاس D را در ۷۰ درصد سویه‌ها یافتند که در آن میان ژن *bla*_{oxa-23-like} شایع‌ترین بود و ۹۵ درصد ژن‌های کدکننده کرباپنماز کلاس D را شامل می‌شد. به‌دنبال آن *bla*_{oxa-58} در ۱۱/۹ درصد و *bla*_{oxa-24/40} در ۵/۶ درصد از ایزوله‌ها شناسایی گردید (۳۳). در ایالات متحده در سال ۲۰۰۹ میلادی، ۱۳ درصد در ایزوله‌های مقاوم به ای‌می‌پنم، حامل ژن *bla*_{oxa-23} بودند در این ایزوله‌ها، سایر ژن‌های کرباپنمازی *bla*_{oxa-24} و *bla*_{oxa-58} یافت نشد (۳۴).

2- Bouvet P, Grimont P. 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 lwoffii*. *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, Tenoer FC, Tenover FC, Tenover 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 antimicrobial 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 Antimicrob 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 Zanzan 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 F¹, Karmostaji A²

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

²Infectious 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 treatment 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 oxacillinase 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 susceptibility 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 isolates contained either *bla*_{oxa-58} or *bla*_{oxa-143} carbapenemase.

Conclusions: It appears that carbapenem 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