

بررسی فراوانی ژن های *tetA bla_{CTX-M}* *bla_{PER}* *bla_{VEB}* و *tetB* در ایزوله های بالینی اسیتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان های تهران در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶

امید عزیزی^{۱،۲*}، فرشته شاهچراغی^۳

- ۱- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران
- ۲- مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران
- ۳- گروه باکتریولوژی، مرکز تحقیقات میکروب شناسی، انتستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: عفونتها و فراوانی ناشی از اسیتوباکتر بومانی مقاوم به چندین دارو شایع بوده و در دهه های اخیر در سراسر جهان گزارش شده است. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ژن های *tetA bla_{CTX-M}* *bla_{PER}* *bla_{VEB}* و *tetB* در ایزوله های بالینی اسیتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران بستری بیمارستان های تهران در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶ انجام شد.

روش ها: در مجموع ۶۵ ایزوله اسیتوباکتر بومانی از نمونه های بالینی جمع آوری شد. تست حساسیت به آنتی بیوتیک ها با روش انتشار دیسک بر اساس دستورالعمل CLSI و وجود ژن های *tetB* *tetA bla_{CTX-M}* *bla_{PER}* *bla_{VEB}* توسط واکنش زنجیره ای پلیمراز انجام گرفت.

نتایج: تمامی نمونه ها به جنتاماکسین، سیپروفلوکاسین، پیپراسیلین، سفووتاکسیم، سفتازیدیم و تتراسایکلین مقاوم بودند. مقاومت ایزوله ها به مینوسیکلین و ایمی پنم به ترتیب ۸۹ درصد و ۸۵ درصد بود. تمام ایزوله ها به عنوان مقاوم به چند آنتی بیوتیک شناخته شدند. ژن های *tetA* *tetB bla_{CTX-M}* *bla_{PER}* *bla_{VEB}* به ترتیب در $\frac{75}{3}$ درصد، $\frac{43}{3}$ درصد، $\frac{35}{3}$ درصد و $\frac{61}{5}$ درصد ایزوله ها شناسایی شدند.

نتیجه گیری: بر اساس این مطالعه فراوانی ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سویه های اسیتوباکتر بومانی بالا بوده و توجه به جداسازی و شناسایی این باکتری در آزمایشگاه های بالینی و بیمارستان ها ضروری به نظر می رسد.

کلیدواژه ها: اسیتوباکتر، مقاومت آنتی بیوتیکی، بتالاکتاماز

*آدرس نویسنده مسئول: خراسان رضوی، تربت حیدریه، خیابان فردوسی شمالی، خیابان رازی، معاونت آموزشی پژوهشی

دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه

آدرس پست الکترونیک: Azizi-omid@outlook.com

سفتاژیدیم تا ۳۸/۹٪ مقاومت به لووفلوكسازین گزارش شده است (۶).

اسینتوباکتر بومانی به صورت ذاتی توانایی تولید اگزاسیلینازهای کلاس D (متعلق به آنزیمهای گروه OXA-51-like AmpC) است که حدود ۴۰ واریانت سکانسی دارند) و سفالوسپورینازهای bla_{OXA-51}, bla_{OXA-40}, bla_{OXA-23}, bla_{OXA-40}, bla_{OXA-58} می‌باشد. این ژن‌ها در بیشتر مناطق دنیا گزارش شده‌اند (۷). عمومی‌ترین شکل آنزیمی مقاومت به کرباپنem‌ها، ژن‌های bla_{OXA-51} و bla_{OXA-58} می‌باشند. این ژن‌ها در بیشتر مناطق دنیا Extended- گزارش شده‌اند (۸). بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (spectrum A) غیر از مشتقات TEM و SHV مانند VEB و PER در ایزوله-های اسینتوباکتر از اروپا و آسیا گزارش شده‌اند (۹). ژن bla_{PER-1} ابتدا در سودوموناس آئروژینوزا یافت شد. پس از آن به طور گسترده در اسینتوباکتر نیز مشاهده گردید. بر اساس توالی‌های آمینواسیدی تیپ‌های مختلفی از این ژن وجود دارد (۱۰).

ژن bla_{VEB-1} ابتدا در جریان شیوع سویه‌های کلونال اسینتوباکتر بومانی در ICU یکی از بیمارستان‌های فرانسه مشاهده شد (۱۱). ژن‌های بتا-لاکتماز (bla) یا بر روی کروموزوم قرار دارند و یا در عناصر متحرک که معمولاً بر روی اینتگرون‌ها واقع شده‌اند، یافت می‌شوند. هر سه ژن‌های bla_{CTX-M}, bla_{VEB} و bla_{PER} بر روی عناصر متحرک ژنتیکی مانند اینتگرون‌ها مشاهده شده‌اند (۱۲).

پمپاز دارو به بیرون از باکتری توسط مکانیسم‌های افلاکس نیز مرتبط با ویژگی MDR است. چندین پمپ افلاکس Tet عامل مقاومت به تتراسایکلین توسط ایزوله‌های کلینیکی اسینتوباکتر بومانی کسب می‌شوند. TetA و TetB شایع‌ترین آنها هستند. TetA در مقاومت به تتراسایکلین و TetB علاوه بر تتراسایکلین در پمپ مینوسایکلین نیز نقش دارد (۱۳). ژن tet(B) در حداقل ۵۰ درصد و tet(A) نیز بین ۱۴ و ۴۶ درصد ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به تتراسایکلین یافت شده است (۱۴، ۱۵). این ژن‌ها بیشتر بر روی پلاسمید قرار داشته و توسط عناصر متحرک ژنتیکی حمل می‌شوند (۱۶). این مطالعه با هدف ارزیابی فراوانی ژن‌های bla_{VEB}, bla_{PER}, bla_{CTX-M} و tetB در ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر

مقدمه

جنس اسینتوباکتر (Acinetobacter) کوکوباسیل گرم منفی غیر تخمیری متعلق به خانواده موراکسالسه (Moraxellaceae) است که به صورت گسترده در محیط وجود داشته و در دستگاه تنفسی، دستگاه ادراری تناسلی و پوست به عنوان یک باکتری فرست طلب یافت می‌شود (۱). اسینتوباکتر بومانی (A.baumannii) مهمترین گونه در این جنس است که یک کوکوباسیل هوایی گرم منفی فرست طلب و عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی است. این باکتری بر روی سطوح و دستگاه‌های بیمارستانی و حتی در شرایط خشک و محیط‌های نامناسب برای چندین روز زنده می‌ماند و از عفونت‌های مختلف بیمارستانی مانند سپتی سمی، پنومونی، اندوکاردیت، منژیت، عفونت‌های پوست و رخم و عفونت‌های مرتبط با دستگاه ادراری جدا شده است (۲).

در حال حاضر عفونت ناشی از اسینتوباکتر بومانی با توجه به ظهور سویه‌های مقاوم به چند دارو (Multiple drug resistance) به سختی به درمان پاسخ می‌دهد (۲). این باکتری عامل ۲-۱۰ درصد از تمام عفونت‌های باکتری‌های گرم منفی و ۹ درصد از کل عفونت‌های بیمارستانی است (۳). به علت مقاومت چند دارویی، درمان عفونت‌های ناشی از اسینتوباکتر بومانی مشکل بوده و منجر به ۲۳ درصد مرگ و میر بیماران بستری در بیمارستان و ۴۳ درصد بیماران بستری در بخش واحد مراقبت‌های ویژه (Intensive care unite) شده است (۴).

در سال‌های اخیر، نوع سویه‌های مقاوم به چند داروی اسینتوباکتر بومانی به طور فزاینده‌ای از عفونت‌های بیمارستانی مختلفی جدا شده است و این سویه‌ها در حال گسترش به مناطق جغرافیایی جدید می‌باشند (۵). افزایش قابل توجه مقاومت آنتی بیوتیکی در سراسر جهان از سال ۲۰۰۴ تا کنون مورد توجه قرار گرفته است، بطوريکه بالاترین میزان مقاومت اسینتوباکتر بومانی در سال ۲۰۰۹ برای سفترياکسون (۸۳/۶ درصد)، پیپراسیلین- تازوباتام (۸۲٪)، و سفتازیدیم (۸۰/۳٪) در خاورمیانه بوده است. همچنین افزایش مقاومت برای همه آنتی بیوتیک‌ها در ایزوله‌های جمع‌آوری شده از برخی مناطق آسیا و آقیانوس آرام، محدوده‌ای از افزایش ۱۹/۱٪ مقاومت به

استفاده از پنس های استریل برداشت و بر روی محیط کشت قرار داده شدند. پلیت ها به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی-گراد گرمایش داری شده و در نهایت قطر هاله عدم رشد اندازه-گیری و نتایج با استفاده از معیارهای CLSI تفسیر شدند (۱۸). از سویه Escherichia coli ATCC 25922 به عنوان سویه کنترل استفاده گردید.

از تکنیک کلونی PCR و بدون نیاز به استخراج DNA جهت تکثیر ژن های bla_{PER} ، bla_{CTX-M} ، bla_{VEB} ، tetA استفاده شد (۱۹). مواد مورد نیاز برای PCR با حجم و غلظت های زیر برای نمونه ها آماده گردید: ۲۰۰ mM از mM، ۱۰ pM از پرایمرهای رفت و برگشت، U Taq polymerase (Ampliqon, .۰/۸ MgCl₂ و ۵.۰ ng از DNA الگو در حجم نهایی Denmark) Gradient ۲۵ میکرولیتر. PCR در دستگاه گرایانه thermal cycler (Biometra-T gradient, Biometra GmbH, Gottingen, Germany) شدن اولیه در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ ثانیه، اتصال پرایمرها به مدت ۳۵ ثانیه در دماهای ذکر شده در جدول ۱، گسترش در دماهای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه و گسترش پایانی در دماهای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶ دقیقه انجام گرفت. سویه های اسیتوباکتر بومانی ATCC 19606 به عنوان کنترل مثبت و اشريشیا کولی DH5α به عنوان PCR کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفتند. پس از پایان این دستیورالعمل های نمونه ها بر روی ژل آگارز یک درصد محتوی ۵ میکرولیتر اتیدیوم بروماید ۱۰ میلی گرم / میلی لیتر در کنار DNA مارکر ۱۵۰۰-۱۰۰۰ bp الکتروفوروز شدند. پس از الکتروفوروز با استفاده از دستگاه ژل داک (U.V Trans illuminator)، وجود باندهای مورد نظر بررسی و عکس برداری بعمل آمد.

از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ جهت انجام تحلیل های آماری استفاده گردید و ارتباط بین وجود ژن های مورد بررسی و مقاومت آنتی بیوتیکی با آزمون کای دو بررسی گردید. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

بومانی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان های تهران در سال ۱۳۹۶-۱۳۹۷ انجام شد.

روش ها

این مطالعه توصیفی به روش مقطعی بر روی ۳۰۰ نمونه بالینی موجود شامل نمونه ادرار، خلط، خون، زخم و کاتتر بیماران بستری در بیمارستان های امام حسین (ع) و شهید مدرس تهران در شش ماهه اول سال ۱۳۹۶ انجام گردید.

نمونه های گرفته شده پس از انتقال به آزمایشگاه بر روی محیط بلاد آگار و مک کانگی آگار (سیگما) کشت شدند. پس از یک شبانه روز انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کلونی های خالص رشد کرده با استفاده از دیسک اکسیداز (تترا متیل پارافنیل دی آمین هیدروکلراید) مورد بررسی قرار گرفت و همزمان این کلونی ها بر روی محیط های افتراقی مانند TSI و SIM کشت داده شدند. از باکتری سودوموناس آئروژنیوزا به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. تایید تشخیص اسیتوباکتر Polymerase اکسیداز منفی و واکنش زنجیره ای پلی مراز (bla_{OXA-51} chain reaction) ژن bla_{OXA-51} صورت گرفت (۱۷).

جهت تکثیر ژن bla_{OXA-51} از پرایمرهای مندرج در جدول ۱ و دمای ۵۶ درجه سانتی گراد برای اتصال پرایمرها استفاده گردید (جدول ۱).

در این مطالعه تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن آگار (Kirby-Bauer) بر اساس دستورالعمل های CLSI (۱۸) برای آنتی بیوتیک های (هایمیدیا- هندوستان) ایمی پنم (۱۰ میکرو گرم)، جنتامایسین (۱۰ میکرو گرم)، سپیروفلوکسازین (۵ میکرو گرم)، پیپراسیلین (۱۰۰ میکرو گرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکرو گرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکرو گرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکرو گرم) و مینوسایکلین (۳۰ میکرو گرم) انجام گرفت. سوسپانسیون تلقیحی باکتری جهت انجام آنتی بیوگرام معادل لوله ۰/۵ مک فارلند تهیه و با استفاده از سواب استریل از سوسپانسیون باکتری برداشت و بر روی محیط مولر هیلتون (هایمیدیا- هندوستان) آگار در سه جهت بصورت چمنی کشت داده شدند. پلیت های کشت داده شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگه داشته شدند تا رطوبت اضافی موجود در محیط از بین برود. پس از آن دیسک های آنتی بیوتیکی با

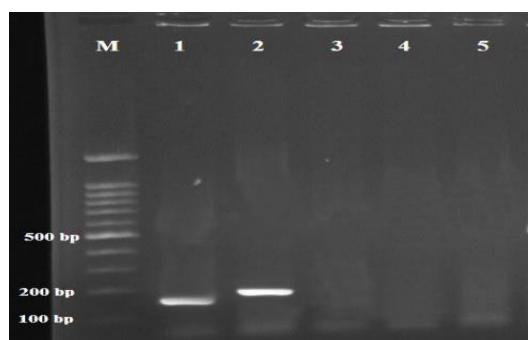
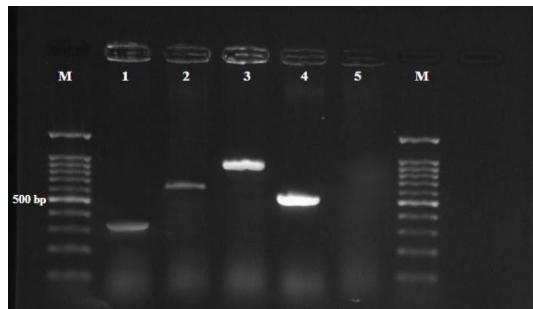
در این مطالعه، در مجموع ۶۵ ایزوله اسیتوباکتر بومانی مقاوم به چندین دارو از بین ۳۰۰ نمونه اولیه جداسازی گردید. از مجموع ۶۵ ایزوله اسیتوباکتر بومانی ۱۸ (۷٪) نفر از بیماران

جدول ۱. پرایمرهای استفاده شده بر حسب توالی، دمای اتصال و اندازه باند محصول PCR

منبع	اندازه محصول (bp)	دمای اتصال (سانتی- گراد)	توالی پرایمر (5' → 3')	نام پرایمر
(۲۰)	۳۲۴	۵۶	F- TAATGCTTGATCGGCCTG R-TGGATTGCACTTCATCTTGG	blaOXA- 51
	۶۴۳	۵۵	F-CGACTTCCATTCCCGATGC R-GGACTCTGCAACAAATACGC	blaVEB
(۲۱)	۹۲۵	۵۶	F-ATGAATGTCATTATAAAAAGC R-AATTGGGCTTAGGGCAGAA	blaPER
	۵۵۱	۶۰	F: CGCTTGCGATGTGCAG R: ACCCGATATCGTTGGT	blaCTX
(۲)	۱۶۴	۶۲	F-GCGCGATCTGGTTCACTCG R-AGTCGACAGYRGCGCCGGC	tetA
	۲۰۶	۵۲	F-TACGTGAATTATTGCTTCGG R-ATACAGCATCCAAAGCGCAC	tetB

آنتی بیوگرام همه ۶۵ ایزوله اسینتوباکتر بومانی به عنوان معلوم به چند دارو شناسایی شدند، چرا که بر اساس تعریف حداقل به سه کلاس آنتی بیوتیکی مقاومت نشان دادند (۲۰). نتایج PCR نشان داد که ژن bla_{OXA-51} با اندازه باند ۳۲۴ bp به عنوان نشانگر ژنتیکی تشخیص اسینتوباکتر بومانی در همه ایزوله ها مثبت گردید (شکل ۱).

بستری شده دارای عالیم عفونت تنفسی، (۲۸/۴۳٪) مورد از نمونه ادرار، (۷/۷٪) مورد از نمونه خون و (۱۴/۲۱٪) مورد از نمونه های حاصل از کاتترها و نمونه های جراحی جدا شدند.



شکل ۲. الکتروفوروز ژل آگارز ۱ درصد برای محصول PCR ژن tetA با اندازه ۳۲۴ bp (چاهک ۱) و ژن tetB با اندازه ۶۴۳ bp (چاهک ۲); M: مارکر DNA ladder 100 bp (چاهک ۳ و ۴)، نمونه های منفی؛ چاهک ۵، کنترل منفی، E.coli DH5α.

نتایج PCR دو ژن tetA و tetB (شکل ۲) در ۶۵ ایزوله اسینتوباکتر بومانی مورد مطالعه به ترتیب ۴۹ (۷۵/۳٪) و ۲۸ (۸۵/۵٪) ایزوله مشاهده گردید. بر اساس یافته های حاصل از

شکل ۱. الکتروفوروز ژل آگارز ۱ درصد برای محصول PCR ژن های bla_{OXA-51} با اندازه ۳۲۴ bp (چاهک ۱)؛ bla_{PER} با اندازه ۶۴۳ bp (چاهک ۲)؛ bla_{VEB} با اندازه ۹۲۵ bp (چاهک ۳) و bla_{CTX} با اندازه ۵۵۱ bp (چاهک ۴)؛ مارکر ۱۰۰ bp (چاهک ۵)؛ M: مارکر ۱۰۰ bp (چاهک ۶)؛ DNA ladder 100 bp (چاهک ۷)؛ ۵۰۰ bp (چاهک ۸)؛ ۲۰۰ bp (چاهک ۹)؛ ۱۰۰ bp (چاهک ۱۰)؛ منفی، E.coli DH5α.

نتایج حاصل از انجام تست حساسیت آنتی بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن نشان داد که تمامی ایزوله ها به آنتی بیوتیک های جنتامايسین، سیپروفلوکسازین، پیراسیلین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم و تتراسایکلین مقاومت دارند. مقاومت به مینوسیکلین در ۵۸ (۸۹٪) ایزوله و مقاومت به ایمی پن در ۲۸ (۸۵٪) ایزوله مشاهده گردید. بر اساس یافته های حاصل از

کاهش مقاومت در مطالعه حاضر می تواند ناشی از تفاوت در محل جمع آوری نمونه، تعداد نمونه های مورد مطالعه و حتی کاهش مصرف آنتی بیوتیک های تتراسایکلین در بیمارستان های مطالعه شده باشد.

از آنجایی که ایزووله های مقاوم به کرباپنام اسیتوباکتر بومانی در حال افزایش است لازم است که مکانیسم مقاومت به کرباپنام ها جهت مدیریت بهتر این ایزووله ها روش نشود. مکانیسم های مقاومت شامل هر دو تغییرات خودبخودی (بیان پایین پورین-های افلاکس دارو، تغییر در پروتئین های متصل شونده به پنی سیلین و یا افزایش پمپهای افلاکس) و یا کسب ژن ها از طریق انتقال افقی ژن می باشد (۲۸). ژن bla_{OXA-51} در OXA-51 فعالیت کرباپنمازی ضعیفی دارد، اما اضافه شدن توالی الحاقی ISAbal در انتهای ۵' ژن bla_{OXA-51} منجر به بیان بالای آن می گردد و این افزایش بیان سبب مقاومت به کرباپنام ها می شود (۲۹). در مطالعه حاضر مقاومت به ایمی پنم می تواند ناشی از وجود ژن bla_{OXA-51} همراه با ISAbal باشد و این مکانیسم های دیگر باشد و این نیاز به انجام مطالعه بیشتر در این زمینه دارد. گزارش های مشابه دیگری در این مورد وجود دارد (۳۰، ۳۱). کرباپنام ها به طور گسترده برای درمان اسیتوباکتر بومانی MDR استفاده می شوند و مطالعه حاضر نشان می دهد که این ایزووله ها اکنون مقاوم شده اند. این آنتی بیوتیک ها دیگر کاملا موثر نبوده و بنابراین درمان انتخابی باید به سمت درمان ترکیبی تغییر پیدا کند. درمان ترکیبی انتخابی برای درمان ایزووله های اسیتوباکتر بومانی مقاوم به کرباپنام ها شامل کرباپنام به همراه کولیستین یا ریفارمپین است (۳۲).

در مطالعه حاضر ESBLs مورد بررسی قرار گرفته شامل bla_{VEB-1} در ۲۳ مورد (۳۵/۳٪)، bla_{CTXm} در ۵۰ مورد (۷۶/۹٪) و bla_{PER-1} در ۴۰ مورد (۶۱/۵٪) ایزووله ها شناسایی شدند. در مطالعه بادمستی (۳۳) ژن bla_{PER-1} در ۴۴٪ ایزووله های اسیتوباکتر بومانی مورد بررسی مشاهده گردید. در مطالعه ای که قبلا صورت گرفته (۳۴) مشخص شد که بین وجود ژن bla_{PER-1} و میزان تشکیل بیوفیلم در اسیتوباکتر بومانی ارتباط معناداری وجود دارد. بنابراین ژن های بتالاکتاماز علاوه

در bla_{CTXm} در ۲۳ مورد (۳۵/۳٪)، bla_{VEB-1} در ۵۰ مورد (۶۱/۵٪) ایزووله شناسایی گردید. بررسی نتایج PCR و آنتی بیوگرام در آزمون کای دو نشان داد بین وجود ژن های tetB و tetA و مقاومت به تتراسایکلین و مینوسایکلین رابطه معنی داری وجود دارد ($P<0.02$)، به طوری که سویه های دارای این ژن ها مقاومت بیشتری نسبت به این آنتی بیوتیک ها نشان دادند. همچنین بر اساس آزمون کای دو بین وجود ESBls و مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها نیز ارتباط معنی داری مشاهده شد ($P<0.02$).

بحث

با توجه به اینکه جداسازی اسیتوباکتر بومانی از طیف وسیعی از عفونتها به طور روز افزون افزایش یافته و با میزان مرگ و میر بالا همراه است، امروزه در میان پاتوژن های مهم بیمارستانی قرار می گیرد. فنوتیپ MDR این باکتری نقش مهمی در پایداری و گسترش میکرووارگانیسم در محیط بیمارستان دارد (۲۱).

حساسیت آنتی بیوتیکی برای آنتی بیوتیک های جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، پیپراسیلین، سفتازیدیم، سفوتوکاسیم و تتراسایکلین نشان داد که تمامی ایزووله ها مقاومت کامل دارند. همچنین مقاومت به مینوسیکلین در ۵۸٪ (۸۹٪) و مقاومت به ایمی پنم در ۵۵٪ (۸۵٪) مشاهده گردید. ایزووله های MDR اسیتوباکتر بومانی از شیوع های بیمارستانی ICU در سراسر جهان (۲۲) و همچنین از ایران (۲۳، ۲۴) جدا شده اند. مطالعات صورت گرفته در سایر مناطق جهان نیز با این یافته مشابه می باشند (۲۵). در مطالعه رهبر و همکاران مقاومت اسیتوباکتر بومانی به سفتربیاکسون، سفتازیدیم، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین به ترتیب ۹۱٪، ۸۴٪، ۸۵٪ و ۹۰٪ گزارش گردید (۲۶). نتایج تحقیق حاضر با مطالعه رهبر و همکاران حاکی از افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های اسیتوباکتر بومانی در بیمارستان های کشور است.

دو ژن tetB و tetA کد کننده افلاکس پمپ بوده و از عوامل مقاومت به تتراسایکلین و مینوسایکلین هستند. بین وجود این ژن ها، (۴۹٪) bla_{PER-1} و tetB (۴۲٪) و tetA (۴۳٪) مقاومت به این آنتی بیوتیک ها ارتباط معنی داری مشاهده گردید. در مطالعه صورت گرفته توسط اسداللهی و همکاران در سال ۲۰۱۲، شیوع ژن tetA (۹۵٪) و ژن tetB (۶۵٪) گزارش گردیده است (۲۷). این

متحرك ژنتیکی مانند اینتگرونها قرار دارند و می توانند به راحتی در بین باکتری های یک گونه و یا از یک جنس به جنس دیگر با مکانیسم انتقال افکی ژن ها در محیط بیمارستان انتقال پیدا کنند و سبب انتشار مقاومت آنتی بیوتیکی شوند. خودداری از مصرف بی رویه آنتی بیوتیکها می تواند در پیشگیری از گسترش مقاومت در این باکتری موثر باشد. از طرفی شناسایی ESBLs ایزوله های MDR اسینتوباکتر بومانی تولید کننده در آزمایشگاه های میکروب شناسی پزشکی ضروری به نظر می رسد.

References

- Marti S, Rodriguez-Bano J, Catel-Ferreira M, Jouenne T, Vila J, Seifert H, et al. Biofilm formation at the solid-liquid and air-liquid interfaces by *Acinetobacter* species. *BMC research notes*. 2011;4:5.
- 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. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2006;50(12):4114-4123.
- Sahu PK, Iyer PS, Oak AM, Pardesi KR, Chopade BA. Characterization of eDNA from the clinical strain *Acinetobacter baumannii* AIIMS 7 and its role in biofilm formation. *The Scientific World Journal*. 2012;2012: 973436.
- Falagas ME, Kopterides P, Siempos II. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infection among critically ill patients. *Clinical infectious diseases*. 2006;43(3):389.
- Gootz TD, Marra A. *Acinetobacter baumannii*: an emerging multidrug-resistant threat. *Expert review of anti-infective therapy*. 2008;6(3):309-325.
- Morfin-Otero R, Dowzicky MJ. Changes in MIC within a global collection of *Acinetobacter baumannii* collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial, 2004 to 2009. *Clinical therapeutics*. 2012;34(1):101-112.

بر مقاومت آنتی بیوتیکی می توانند بر روی سایر فاکتورهای ویرولانس هم تاثیر مستقیمی داشته باشند.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که میزان فراوانی ژن های عامل مقاوم به *tetB*, *tetA* و بتالاکتامازهای وسیع الطیف (*bla_{PER-1}* و *bla_{CTXm}*, *bla_{VEB-1}*) در ایزوله های اسینتوباکتر بومانی بسیار بالا و از عوامل ایجاد کننده فوتیپ MDR و مقاومت به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین و خانواده بتالاکتام می باشند. به طور کلی این ژن ها بر روی عناصر 7. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International journal of antimicrobial agents*. 2010;35(3):219-226.

- Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clinical Microbiology and Infection*. 2006;12(9):826-836.
- Naas T, Bogaerts P, Bauraing C, Deghildre Y, Glupczynski Y, Nordmann P. Emergence of PER and VEB extended-spectrum beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* in Belgium. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58(1):178-82.
- Tada T, Shrestha S, Shimada K, Ohara H, Sherchand JB, Pokhrel BM, Kirikae T. PER-8, a Novel Extended-Spectrum β -Lactamase PER Variant, from an *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolate in Nepal. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017 Feb 23;61(3).
- Poirel L, Menuteau O, Agoli N, Cattoen C, Nordmann P. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *J Clin Microbiol*. 2003 Aug;41(8):3542-7.
- Opal MS, Pop-Vicas A. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In: Mandell GL, Bennett JE & Dolin

- R: Principles and Practice of Infectious Diseases. 7 ed: Elsevier; 2010; 88-92.
13. Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2007 Jun;59(6):1210-5.
15. Guardabassi L, Dijkshoorn L, Collard JM, Olsen JE, Dalsgaard A. Distribution and in-vitro transfer of tetracycline resistance determinants in clinical and aquatic *Acinetobacter* strains. *J Med Microbiol*. 2000 Oct;49(10):929-36.
16. Coyne S, Courvalin P, Périchon B. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Mar;55(3):947-53.
17. Azizi O, Shakibaie MR, Badmasti F, Modarresi F, Ramazanzadeh R, Mansouri S, Shahcheraghi F. Class 1 integrons in non-clonal multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* from Iran, description of the new blaIMP-55 allele in In1243. *J Med Microbiol*. 2016 Sep;65(9):928-36.
18. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentieth informational supplement: M100-S20. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne PA: USA; 2016.
19. Woodman ME, Savage CR, Arnold WK, Stevenson B. Direct PCR of Intact Bacteria (Colony PCR). *Curr Protoc Microbiol*. 2016 Aug 12;42:A.3D.1-7.
20. Manchanda V, Sanchaita S, Singh N. Multidrug resistant *Acinetobacter*. *J Glob Infect Dis*. 2010 Sep;2(3):291-304.
21. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology*. 2007;5(12):939-951.
22. Higuchi S, Shikata M, Chiba M, Hoshino K, Gotoh N. Characteristics of antibiotic resistance and sequence type of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Japan and the antibacterial activity of DS-8587. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2014;18(10):731-737.
14. Nicola Gordona, David Wareham. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010; 35:219–226.
- infection and chemotherapy. 2014;20(4):256-261.
23. 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 Pacific journal of tropical biomedicine*. 2013;3(2):140-145.
24. 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. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*. 2014; 2(1):22-28.
25. Adams MD, Goglin K, Molyneaux N, Hujer KM, Lavender H, Jamison JJ, et al. Comparative genome sequence analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of bacteriology*. 2008;190(24):8053-8064.
26. Rahbar M, Mehrgan H, Aliakbari NH. Prevalence of antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* in a 1000-bed tertiary care hospital in Tehran, Iran. *Indian J Pathol Microbiol*. 2010 Apr-Jun;53(2):290-3.
27. Asadollahi P, Akbari M, Soroush S, Taherikalani M, Asadollahi K. Antimicrobial resistance patterns and their encoding genes among *Acinetobacter baumannii* strains isolated from burned patients. *Burns*. 2012 Dec;38(8):1198-203.
28. Paton R, Miles R, Hood J, Amyes S. ARI 1: β-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *International journal of antimicrobial agents*. 1993;2(2):81-87.
29. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of ISAbal in expression of OXA

- carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. FEMS microbiology letters. 2006;258(1):72-77.
30. Jeon BC, Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Young D, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 beta-lactamase in korea. Journal of clinical microbiology. 2005;43(5):2241-2245.
31. 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. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2009;63(1):55-59.
32. Petrosillo N, Chinello P, Proietti M, Cecchini L, Masala M, Franchi C, et al. Combined colistin and rifampicin therapy for carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections: clinical outcome and adverse events. Clinical Microbiology and Infection. 2005;11(8):682-683.
33. Badmasti F, Siadat SD, Bouzari S, Ajdary S, Shahcheraghi F. Molecular detection of genes related to biofilm formation in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical settings. Journal of medical microbiology. 2015;64(5):559-564.
34. Azizi O, Shahcheraghi F, Salimizand H, Modarresi F, Shakibaie MR, Molecular Analysis and Expression of bap Gene in Biofilm-Forming Multi-Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Rep Biochem Mol Biol. 2016 Oct;5(1):62-72.

The Frequency of *bla_{PER}*, *bla_{VEB}*, *bla_{CTX-M}*, *tetA* and *tetB* genes among *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospitalizes patients in Tehran

Omid Azizi^{1,2*}, Fereshteh Shahcheraghi³

- 1- Department of Laboratory Sciences, School of Paramedical Sciences, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran
- 2- Health Sciences Research Center, Torbat Heydariyeh University of Medical Science, Torbat Heydariyeh, Iran
- 3- Department of Bacteriology, Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

***Corresponding Address:** Torbat Heydariyeh University of Medical Science, Torbat Heydariyeh,, Iran

Email address: Azizi-omid@outlook.com

Abstract

Background & Aim: Infections and outbreaks caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* are prevalent and have been reported worldwide over the past twenty or more years. Beta-lactamase genes including *bla_{PER}*, *bla_{VEB}* and *bla_{CTX-M}* confer resistance to beta-lactam antibiotics and *tetA* and *tetB* are responsible for resistance to tetracycline in such bacteria.

Methods: A total of 65 isolates of *A. Baumannii* from clinical samples were collected. Antimicrobial susceptibility testing was performed by the disk diffusion method according to the CLSI guideline and the presence of *bla_{OXA-51}*, *tetA*, *tetB*, *bla_{VEB}*, *bla_{CTX}* and *bla_{PER}* were screened via the polymerase chain reaction (PCR).

Results: The isolates were 100% resistant to gentamicin, ciprofloxacin, piperacillin, cefotaxime, ceftazidime and tetracycline. Resistance to minocycline and imipenem stood at 89% and 85%, respectively. All isolates were identified as multi-drug resistant (MDR). The genes *tetA*, *tetB*, *bla_{VEB}*, *bla_{CTX}* and *bla_{PER}* were detected in 75.3%, 43%, 35.3%, 76.9% and 61.5% of isolates, respectively.

Conclusion: This study revealed the high prevalence of antimicrobial resistance genes amongst *Acinetobacter baumannii* and thus confirms the need for isolating and identifying them in clinical laboratory and hospital settings.

Keywords: *Acinetobacter*, Antibiotic resistance, Beta-lactamase