مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره نهم، شماره دهم، دی ۹۴
صفحه ۵۵ الی ۶۳

مقاله پژوهشی
(Original Article)

بررسی حضور اگزاسیلینازها (bla_{OXA-51}، bla_{OXA-58}، bla_{OXA-23}، bla_{OXA-24}) در اسینتوباکتر بامانی جداشده در بیمارستان امام خمینی تهران و نمازی شیراز

مریم رحمانی[۱]، نور امیرمظفری[۲*]، مژگان عشاقی[۳]

چکیده

زمینه و هدف: اسینتوباکتر بامانی یک باکتری فرصت‌طلب و عامل عفونت در انسان است. این باکتری با مقاوم‌شدن نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، روند درمان را با مشکل مواجه کرده است. یکی از ویژگی‌های مهم این باکتری، مقاوم بودن نسبت به کارباپنم‌ها می‌باشد. این مطالعه با هدف ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور اگزاسیلینازهای موجود در اسینتوباکتر بامانی جداشده از نمونه‌های بالینی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه موردی - مقطعی، ۱۴۰ ایزوله اسینتوباکتر بامانی از نمونه‌های بالینی بیمارستان امام خمینی تهران و نمازی شیراز در سال ۱۳۹۲-۱۳۹۱ جمع‌آوری شد. سویه‌ها با روش‌های استاندارد کشت، بیوشیمیایی و مولکولی تعیین هویت شدند. آزمایش تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن نسبت به ۱۲ آنتی‌بیوتیک انجام گرفت، سپس برای بررسی حضور۴ ژن ($bla_{OXA-23, 24, 51, 58}$)، از روش Multiplex PCR استفاده گردید.

یافته‌ها: در میان سویه‌ها، مقاومت بالای ۸۰٪ به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، جنتامایسین، آمیکاسین، کوتریموکسازول، سفپیم، سفتازیدیم، تتراسایکلین و ریفامپسین دیده شد. همچنین ایزوله‌های جداشده از نمونه‌های بالینی بیمارستان نمازی شهر شیراز نسبت به داروهای تایژسیکلین، آمپی‌سیلین - سولباکتام و سیپروفلوکساسین، مقاومت بالاتری را نشان دادند. تکنیک Multiplex PCR حضور ژن‌های bla_{OXA-58}، bla_{OXA-23}، bla_{OXA-24} را به ترتیب ۸۲/۱٪ ، ۴/۳٪ و ۰/۷٪ نشان داد. تمامی ۱۴۰ ایزوله که با روش فنوتیپی تعیین هویت شدند دارای ژن bla_{OXA-51} بودند.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج این مطالعه، مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالای ۸۰٪ نسبت به غالب آنتی‌بیوتیک‌ها، بر لزوم استفاده از داروهای جدید مانند تایژسیکلین تأکید دارد. همچنین حضور بالای (۸۲/۱٪) ژن bla_{OXA-23} در ایزوله‌های مقاوم به کارباپنم اسینتوباکتر بامانی بر اهمیت آن در القای مقاومت به کارباپنم‌ها تأکید می‌کند.

کلید واژه‌ها: اسینتوباکتر بامانی؛ مقاومت دارویی آنتی‌بیوتیکی؛ کاربابنماز.

[۱]دانشجوی کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[۲]استاد میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

[۳]استادیار میکروب‌شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
نور امیرمظفری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
amirmozafari@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۷

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۶

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Rahmani M, Amirmozafari N, Oshagi M. An investigation of the presence of oxacillinase genes (bla_{OXA-51}, bla_{OXA-23}, bla_{OXA-58}, bla_{OXA-24}) in acinetobacter baumannii strains isolated from patients in Tehran Imam Khomeini Hospital and Shiraz Namazi Hospital, Iran. Qom Univ Med Sci J 2015;9(10):55-63. [Full Text in Persian]

مقدمه

اسینتوباکتر بامانی یک کوکوباسیل گرم منفی غیرتخمیری هوازی و متعلق به خانواده موراکسلاسه می‌باشد. این باکتری به‌طور معمول از محیط بیمارستان و بیماران بستری در بیمارستان جدا شده و جزء عفونت‌های فرصت‌طلب محسوب می‌گردد. اسینتوباکترها، به‌ویژه اسینتوباکتر بامانی جزء فلور طبیعی پوست بوده و می‌تواند در حفره دهان، حلق و لوزه مستقر شود که این مسئله خود از لحاظ اپیدمیولوژی و عفونت‌های بیمارستانی حایز اهمیت است. بیش از ۴۳٪ افراد سالم، این ارگانیزم را در سطح بدن خود دارند. بیشتر مناطق رایج عفونت با اسینتوباکتر بامانی در ریه بوده و شامل عفونت ادراری، عفونت زخم و سپتی‌سمی می‌باشد. میزان شیوع این عفونت‌ها با وضعیت بیمارستان، نوع بخش و بیمار ارتباط دارد (۱).

در سال ۲۰۰۴، مرکز کنترل بیماری‌ها (CDC)، گونه اسینتوباکتر بامانی را عامل حدود ۸۰٪ از عفونت‌های اسینتوباکتر اعلام کرد (۲). اسینتوباکتر بامانی به دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیک یکی از مشکلات مطرح در عفونت‌های بیمارستانی در سراسر دنیا محسوب می‌شود. اهمیت بالینی این باکتری به‌ویژه در طی ۱۵ سال اخیر با توانایی کسب شاخص‌های مقاومت؛ درمان‌های آنتی‌بیوتیک را با تهدید جدی مواجه ساخته است (۳). گسترش مقاومت چشمگیر به کاربا‌پنم‌ها موجب نگرانی در بخش سلامت عمومی‌شده و گزینه‌های درمانی کمی را باقی گذاشته است. آنزیم‌های بتالاکتاماز کلاس D هیدرولیزکننده کاربا‌پنم (آنزیم‌های اگزاسیلینازها)، یکی از مهم‌ترین مکانیسم مقاومت به کاربا‌پنم‌ها هستند (۶-۴). در این مطالعه، حضور ۴ زیرگروه فیلوژنیک (*bla OXA-24*، *bla OXA-23*، *bla OXA-58*، *bla OXA-51*) مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه ، تعداد ۱۴۰ ایزوله اسینتوباکتر، از بیمارستان امام خمینی تهران و نمازی شیراز در محدوده زمانی آذرماه سال ۱۳۹۱ تا خردادماه سال ۱۳۹۲جمع‌آوری شد. این باکتری‌ها از نمونه‌های بالینی مختلف نظیر زخم، خلط، ترشحات لوله تراشه، ادرار، خون، مایع مغزی نخاعی و سایر ترشحات بدن جدا شدند.

در ابتدا باکتری‌ها در محیط مولر هینتون آگار به مدت یک شب کشت داده شدند و رنگ‌آمیزی گرم به‌منظور دیدن کوکوباسیل‌های گرم متغیر انجام گرفت. بررسی واکنش‌های اکسیداز (منفی)، OF گلوکز (مثبت) و عدم تحرک در محیط SIM، عدم تخمیر قندها در محیط TSI و رشد در دمای ۴۴ درجه سلسیوس انجام شد. همچنین روی محیط افتراقی مک‌کانکی،کلنی‌های صورتی صاف ایجاد گردید. برای تمامی ایزوله‌ها، تست OF لاکتوز و تست همولیز بر روی بلاد آگار با خون گوسفندی انجام شد. هرچند این روش‌های فنوتیپی قادر به افتراق دقیق و تشخیص گونه اسینتوباکتر بامانی نمی‌باشند (۷). جداسازی ژن *bla$_{OXA-51}$* روش آسان و قابل‌اعتمادی برای تمایز گونه بامانی از سایر گونه‌های اسینتوباکتر می‌باشد (۱۰-۸). ژن *bla$_{OXA-51}$* به روش PCR مورد شناسایی قرار گرفت.

حساسیت باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها، به روش دیسک دیفیوژن یا انتشار در آگار بررسی گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک شامل: ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم، IMI)، آمپی‌سیلین - سولباکتام (۱۰/۱۰ میکروگرم، SAM)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم، GM)، سیپروفلوکسازین (۵ میکروگرم، CIP)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم، AN)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم، SXT)، سفپیم (۳۰ میکروگرم، CPM)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم، CAZ)، تایژسیکلین (۳۰ میکروگرم، TIG)، کلیستین (۱۰ میکروگرم، CO)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم، T)، ریفامپسین (۵ میکروگرم، RP)، ساخت شرکت MAST Diagnostic Co., Bootle, UK) بود. از سویه استاندارد *اشرشیا کلی* ATCC 25922، به‌عنوان کنترل کیفی دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استفاده شد. برای تمامی‌ایزوله‌ها اسینتوباکتر بامانی جداشده از نمونه‌های بالینی، تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار دیسک (کربی- باویر) طبق توصیه و ضوابط مؤسسه CLSI نسبت به ۱۲ آنتی‌بیوتیک انجام گرفت (۱۱). بدین ترتیب که یک تک‌کلنی از باکتری اسینتوباکتر بامانی در ۳ میلی‌لیتر نرمال سالین حل شد و کدورت حاصل با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند مطابقت داده شد. در ادامه، یک سواپ استریل در سوسپانسیون میکروبی حاصل خیسانده شد و در محیط مولر هینتون آگار تلقیح گردید. سپس دیسک‌های ذکرشده در محیط کشت با فواصل مناسب

به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند.

با روش مولتی‌پلکس PCR، شیوع ۳ شاخه اصلی از اگزاسیلینازها، علاوه بر شاخه اصلی *bla*$_{OXA-51}$ به شرح زیر بررسی گردید:

برای استخراج DNA کروموزوم باکتری‌ها، از روش جوشانیدن استفاده شد. این روش ساده، شامل مراحل ذیل بود:

از کشت تازه باکتری از روی محیط جامد مولر هینتون به میزان ۲-۱ آنس حلقوی استاندارد (۱۰ میکرولیتر) رشد میکروبی برداشت شد و به یک میکروفیوژ تیوب حاوی ۵۰۰-۲۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه منتقل گردید. سپس میکروفیوژ تیوب در کف بن‌ماری محتوی آب در حال جوش با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا باکتری غیرفعال گردد. پس از خروج میکروفیوژ تیوب از بن‌ماری، به مدت ۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و پس از خنک‌شدن در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰x سانتریفوژ گردید. سپس مایع فوقانی به یک میکروفیوژ جدید منتقل شد.

پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Multiplex PCR ژن‌های اگزاسیلیناز در جدول شماره ۱ آمده است (۶). برنامه‌ریزی دستگاه ترموسایکلر برای Multiplex PCR ژن‌های اگزاسیلیناز شامل: ۱- واسرشت اولیه، ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سلسیوس؛ ۲- واسرشت ۲۵ ثانیه در ۹۴ درجه سلسیوس؛ ۳- اتصال ۴۰ ثانیه در ۵۲/۴ درجه سلسیوس؛ ۴- طویل‌سازی ۵۰ ثانیه در ۷۲ درجه سلسیوس، به تعداد ۳۰ سیکل و ۵- طویل‌سازی نهایی، ۶ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس بود.

جدول شماره ۱: پرایمرهای مورد نیاز برای Multiplex PCR

پرایمر	توالی	طول (bp)
OXA-51-like-F	5'-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3'	۳۵۳
OXA-51-like-R	5'-TGGATTGCACTTCATCTTGG-3'	
OXA-23-like-F	5'-GATCGGATTGGAGAACCAGA-3'	۵۰۱
OXA-23-like-R	5'-ATTTCTGACCGCATTTCCAT-3'	
OXA-24-like-F	5'-GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA-3'	۲۴۶
OXA-24-like-R	5'-AGTTGAGCGAAAAGGGGATT-3'	
OXA-58-like-F	5'-AAGTATTGGGGCTTGTGCTG-3'	۵۹۹
OXA-58-like-R	5'-CCCCTCTGCGCTCTACATAC-3'	

یافته‌ها

نمونه‌های بالینی شامل: تراشه، ۲۷٪؛ خلط، ۲۵٪؛ ادرار، ۱۹٪؛ زخم، ۱۱٪؛ سایر مایعات، ۶٪؛ خون ۴٪ و سایر نمونه‌ها ۸٪ بود. ۶۱ ایزوله اسینتوباکتر از زنان و ۷۹ ایزوله از مردان جدا شد. بعد از انجام تست‌های فنوتیپی، جهت تشخیص جنس اسینتوباکتر، برای تأیید نهایی جنس و گونه این باکتری از روش مولکولی PCR برای ژن *bla*$_{OXA-51}$ استفاده گردید که ۱۰۰٪ اسینتوباکتر بامانی تشخیص داده شد.

برای ۱۴۰ نمونه اسینتوباکتر بامانی، OF قند لاکتوز انجام شد که از بین ۱۴۰ نمونه، ۶/۴٪ (۹ نمونه) از اسینتوباکترهای مورد بررسی، لاکتوز منفی شدند. در بررسی همولیز که بر روی محیط بلاد آگار با خون گوسفندی انجام گرفت، ۳/۶٪ از نمونه‌ها (۵ نمونه) دارای همولیز مثبت پس از طی ۴۸ ساعت بودند.

آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، سفتازیدیم، کوتریموکسازول و ریفامپسین، مقاومت بالای ۹۰٪ را نشان دادند. در این میان، ایمی‌پنم، بالاترین مقاومت؛ یعنی ۱۲۹ نمونه (۹۲/۰٪) را داشت و کولیستین با حساسیت ۱۰۰٪ بر روی اسینتوباکتر مؤثر بود. همچنین آمپی‌سیلین - سولباکتام و تایژسیکلین با مقاومت به ترتیب در ۲۴ نمونه (۱۷/۱٪) و ۳۱ نمونه (۲۱/۰٪) بعد از کولیستین، حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک برای این باکتری شناخته شدند (جدول شماره ۲). میزان مقاومت به تایژسیکلین و آمپی‌سیلین - سولباکتام بین دو بیمارستان، تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای داشت، به‌طوری‌که میزان مقاومت در بیمارستان شیراز نسبت به این دو آنتی‌بیوتیک به‌طور معنی‌داری افزایش نشان می‌داد (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۲: نتایج دیسک دیفیوژن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش درایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بامانی

آنتی‌بیوتیک	مقاوم	حد واسط	حساس
ریفامپسین	۱۲۷ (٪۹۰/۷)	۷ (٪۵/۰)	۶ (٪۴/۳)
تتراسایکلین	۱۲۵ (٪۸۹/۰)	۴ (٪۲/۸)	۱۱ (٪۷/۸)
کوتریموکسازول	۱۲۶ (٪۹۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۱۴ (٪۱۰/۰)
کلیستین	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۱۴۰ (٪۱۰۰)
ایمی‌پنم	۱۲۹ (٪۹۲/۰)	۲ (٪۱/۴)	۹ (٪۶/۴)
سفتازیدیم	۱۲۷ (٪۹۱/۰)	۸ (٪۵/۷)	۵ (٪۳/۶)
جنتامایسین	۱۱۸ (٪۸۴/۳)	۱۱ (٪۷/۸)	۱۱ (٪۷/۸)
سیپروفلوکسازین	۴۷ (٪۳۳/۰)	۶۶(٪۴۷/۰)	۲۷ (٪۹/۳)
آمیکاسین	۱۱۱ (٪۷۹/۰)	۱۵ (٪۱۰/۷)	۱۴ (٪۱۰/۰)
سفپیم	۱۲۵ (٪۸۹/۰)	۴ (٪۲/۸)	۱۱(٪۷/۸)
تایژسیکلین	۳۰ (٪۲۱/۰)	۷۳(٪۵۲/۰)	۳۷ (٪۲۶/۴)
آمپی‌سیلین - سولباکتام	۲۴ (٪۱۷/۱)	۳۳ (٪۲۳/۶)	۸۳ (٪۵۹/۳)

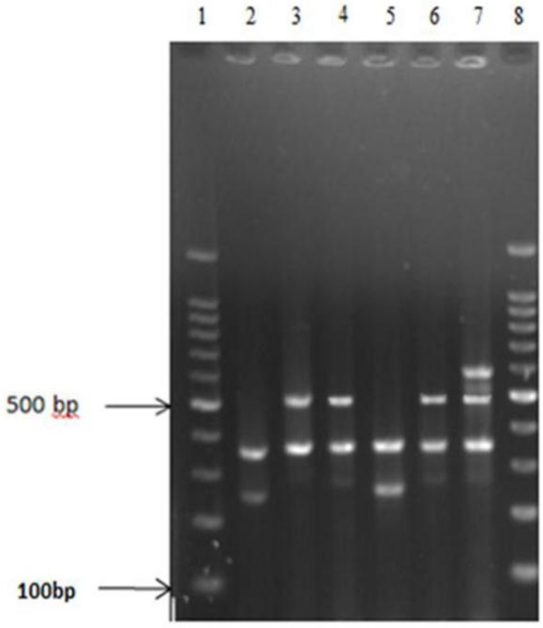
ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم، IMI)، آمپی‌سیلین – سولباکتام (۱۰/۱۰ میکروگرم، SAM)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم، GM)، سیپروفلوکسازین (۵ میکروگرم، CIP)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم، Ak)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم، SXT)، سفپیم (۳۰ میکروگرم، CPM)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم، CAZ)، تایژسیکلین (۳۰ میکروگرم، TIG)، کلیستین (۱۰ میکروگرم، CO)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم، T)، ریفامپسین (۵ میکروگرم، RP)

جدول شماره ۳: درصد مقاومت اسینتوباکتر بامانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های موردآزمایش برحسب بیمارستان به روش دیسک دیفیوژن

آنتی‌بیوتیک	بیمارستان شماره۱	بیمارستان شماره۲	جمع کل
	تعدادنمونه:۱۲۰	تعدادنمونه:۲۰	
ریفامپسین	۱۰۸ (٪۹۰/۰)	۱۹ (٪۹۵/۰)	۱۲۷
تتراسایکلین	۱۰۷ (٪۸۹/۲)	۱۸ (٪۹۰/۰)	۱۲۵
کوتریموکسازول	۱۰۷ (٪۸۹/۲)	۱۹ (٪۹۵/۰)	۱۲۶
کلیستین	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰
ایمی‌پنم	۱۰۹ (٪۹۰/۸)	۲۰(٪۱۰۰)	۱۲۹
سفتازیدیم	۱۱۰ (٪۹۱/۶)	۱۷ (٪۸۵/۰)	۱۲۷
جنتامایسین	۱۰۱ (٪۸۴/۱)	۱۷ (٪۸۵/۰)	۱۱۸
سیپروفلوکسازین	۳۶(٪۳۰/۰)	۱۱(٪۵۵/۰)	۴۷
آمیکاسین	۹۶ (٪۸۰/۰)	۱۵ (٪۷۵/۰)	۱۱۱
سفپیم	۱۰۷ (٪۸۹/۲)	۱۸ (٪۹۰/۰)	۱۲۵
تایژسیکلین	۱۹ (٪۱۵/۸)	۱۱(٪۵۵/۰)	۳۰
آمپی‌سیلین- سولباکتام	۱۷ (٪۱۴/۱)	۷ (٪۳۵/۰)	۲۴

بیمارستان شماره ۱: امام خمینی تهران، بیمارستان شماره۲: نمازی شیراز

مولتی‌پلکس PCR جهت بررسی ژن‌های اگزاسیلیناز (*bla*$_{OXA-51}$، *bla*$_{OXA-58}$، *bla*$_{OXA-23}$، *bla*$_{OXA-24}$) انجام شد (شکل). برای تمامی نمونه‌های منفی، ۲ بار تست PCR به‌صورت تک‌ژنی تکرار گردید. ۱۱۵ سویه از ۱۴۰ جدایه (٪۸۲/۱) اسینتوباکتر بامانی مورد آزمایش دارای ژن *bla*$_{OXA-23}$ بود. ۶ سویه از ۱۴۰ جدایه (٪۴/۳) حاوی ژن *bla*$_{OXA-24}$ و ۱ سویه (٪۰/۷) حامل ژن *bla*$_{OXA-58}$ بود. هیچ‌کدام از نمونه‌ها، حامل دو ژن *bla*$_{OXA-24}$ و *bla*$_{OXA-23}$ نبودند. ژن *bla*$_{OXA-58}$ همراه با ژن *bla*$_{OXA-23}$ در یک نمونه یافت شد. فراوانی سویه‌های دارای ژن‌های *bla*$_{OXA-23}$، *bla*$_{OXA-24}$ و *bla*$_{OXA-58}$ بین ۲ بیمارستان، تفاوت چشمگیری نداشت (جدول شماره ۴).



شکل: واکنش Multiplex PCR برای ژن‌های *bla*$_{OXA-51}$، *bla*$_{OXA-58}$، *bla* $_{OXA-23}$، *bla* $_{OXA-24}$
چاهک شماره۱ و ۸: Ladder 100 bp، چاهک شماره ۲ و ۵: *bla*$_{OXA-51}$ (353 bp) و *bla*$_{OXA-24}$ (246 bp) و چاهک شماره۳،٤ و ٦: *bla*$_{OXA-51}$ (353 bp) و *bla*$_{OXA-23}$ (501 bp) و چاهک شماره ۷: *bla*$_{OXA-51}$ (353 bp)، *bla*$_{OXA-58}$ (599 bp) و *bla*$_{OXA-23}$ (501 bp)

جدول شماره ٤: درصد فراوانی سویه‌های حاوی ژن‌های اگزاسیلیناز

اگزاسیلینازها	OXA-23,51	OXA-24,51	OXA-23,51,58
بیمارستان ۱	۹۷ (٪۸۱/۰)	۵ (٪۴/۲)	۱(٪۰/۸)
بیمارستان ۲	۱۸ (٪۹۰/۰)	۱ (٪۵/۰)	۰ (٪۰/۰)
جمع	۱۱۵ (٪۸۲/۱)	۶ (٪۴/۳)	۱(٪۰/۷)

بحث

در طی دهه گذشته، حضور اسینتوباکتر بامانی به‌عنوان مهم‌ترین عامل بیماری‌زای بیمارستانی در سراسر دنیا شناخته شد. بخشی از این رخداد، مربوط به توانایی بقای این میکروارگانیسم در محیط‌های بیمارستانی و کسب مکانیسم مقاومت و ایجاد عفونت‌های حاد، به‌ویژه در بیماران بدحال است. اگرچه اطلاعات زیادی در مورد مکانیسم‌های مسئول مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این میکروارگانیسم موجود است، ولی همچنان قادر به متوقف کردن آن نیستند.

امروزه، شاهد سویه‌هایی با مقاومت جهانی و حتی مقاوم به کولیستین بوده که درمان را با محدودیت جدی مواجه کرده است. به عبارت دیگر، دانش کمی در مورد مکانیسم بیماری‌زایی این باکتری در دسترس می‌باشد، لذا لازم است در این خصوص بررسی‌های بیشتری صورت گیرد. علاوه بر این، باید به ضرورت شناخت درمان‌های جدید و تحقیق بر روی داروهای جدیدی که نه تنها بر روی رشد باکتری مؤثرند؛ بلکه با عوامل بیماری‌زایی این باکتری نیز تداخل می‌کنند، توجه جدی داشت (۷). در مطالعه حاضر از روش فنوتیپی و PCR برای شناسایی ژن *bla*$_{OXA-51}$ که اختصاص این گونه است، استفاده گردید. همچنین برای شناسایی جنس و گونه از تست‌های فنوتیپی و ژنوتیپی استفاده شد که کاملاً نتایج یکدیگر را تأیید کرده‌اند. تمامی نمونه‌هایی که با تست فنوتیپی به‌عنوان اسینتوباکتر بامانی شناسایی شدند با تست PCR، ۱۰۰٪ دارای ژن bla$_{OXA-51}$ بودند.

در سال ۲۰۱۰ برطبق گزارش شبکه ملی، ۳۴٪ از ایزوله‌های اسینتوباکتر بامانی در بیمارستان‌های آمریکا در بین سالهای ۲۰۰۶ و ۲۰۰۸ به کارباپنم‌ها و حداقل ۳ دسته دیگر از آنتی‌بیوتیک‌ها شامل آمپی‌سیلین- سولباکتام، پنی‌سیلین‌های ضدسودوموناسی، سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف ، فلوروکینولون‌ها و

آمینوگلیکوزیدها مقاوم بودند (۱۲). در بررسی دیگر، افزایش مقاومت به کارباپنم‌ها از ۲۲٪ در سال ۲۰۰۲ تا ۲۵٪ در سال ۲۰۰۸ گزارش شد (۱۳). در ایران، ۴۹/۳٪ مقاومت به ایمی‌پنم؛ ۵۰٪ مقاومت به مروپنم در سال ۲۰۰۸ (۱۴)؛ ۵۲/۵٪ مقاومت به ایمی‌پنم و مروپنم در سال ۲۰۰۹ (۱۵) و ۴۹/۲٪ مقاومت به ایمی‌پنم در سال ۲۰۱۱ گزارش شده است (۱۶). در این مطالعه، درصد مقاومت نمونه‌های مورد بررسی به ایمی‌پنم ۹۲/۰٪ بود که افزایش مقاومت در طول زمان را نشان می‌داد. در مطالعه حاضر نیز بسیاری از گونه‌ها حداقل ۲ ژن کارباپنماز را همزمان دارا بودند. ژن bla_{OXA-51} ذاتی این باکتری بوده و ژن‌های bla_{OXA-23}، bla_{OXA-24}، bla_{OXA-58} اکتسابی می‌باشند. در مطالعه حاضر، ۸۲/۱٪ از جدایه‌های اسینتوباکتر بامانی دارای ژن bla_{OXA-23}، ۴/۲٪ دارای ژن bla_{OXA-24} و ۰/۷٪ حامل ژن bla_{OXA-58} بودند.

انتشار بالای ژن bla_{OXA-23} مطابق با گزارشهای جهانی است که بین ۱۰۰-۷۰٪ شیوع این ژن را ذکر کرده‌اند (۲۰-۱۷). اگرچه از انتشار ژن‌های bla_{OXA-58} و bla_{OXA-24} برحسب نواحی جغرافیایی، گزارشهای مختلفی در دسترس است (۲۱). Mendez و همکاران در طی سالهای ۲۰۰۷- ۲۰۰۶ از ۴۱ مرکز پزشکی در ۱۰ کشور، ژن‌های کارباپنمازی کلاس D را در ۷۰٪ سویه‌ها یافتند که از آن میان، ژن bla_{OXA-23} شایع‌تر بود و ۹۵٪ ژن‌های کدکننده کارباپنماز D را شامل می‌شد. درپی آن bla_{OXA-58} شیوع بیشتری داشت (۱۱/۹٪) و ژن bla_{OXA-24} در ۵/۶٪ سویه‌ها یافت شد (۲۲). در ایران OXA-23-like در ۲۵٪ و OXA-24-like در ۱۷/۱٪ و OXA-58-like در ۹٪ سویه‌ها در سال ۲۰۰۸ گزارش شده است (۱۴). همچنین در سال ۲۰۰۹، OXA-23 like در ۲۵٪ و OXA-58-like در ۲۱/۲٪ و OXA-24-like در ۱۵٪ سویه‌ها گزارش گردید (۱۵).

توضیح تفاوت مشاهده‌شده در مطالعه حاضر با سایر مطالعات ذکرشده در ایران را می‌توان به ارزیابی بیمارستان‌های مختلف نسبت داد. مطالعات در نقاط مختلف دنیا نشان داده است تفاوت‌های جغرافیایی در اپیدمیولوژی مولکولی ژن‌های کارباپنمازی تأثیر دارد (۲۱). در مطالعه حاضر نیز ۱۱۲ سویه تنها دارای ژن اگزاسیلینازی bla_{OXA-23} و فاقد سایر ژن‌های اگزاسیلینازی بودند.

البته باید در نظر داشت که همه نمونه‌ها ژن bla_{OXA-51} را داشتند و مقاوم به هر دو کارباپنم و یا یکی از آنها بودند. این را می‌توان نشانگر نقش بارز این ژن در مقاومت یا کاهش حساسیت اسینتوباکتر بامانی به کارباپنم قلمداد کرد.

در مطالعه حاضر، حساسیت آنتی‌بیوتیکی به ۱۲ آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم، آمپی‌سیلین - سولباکتام، تایژسیکلین، سیپروفلوکساسین، تتراسایکین، جنتامایسین، کوتریموکسازول، ریفامپسین، کولیستین، سفپیم، آمیکایسین و سفتازیدیم انجام شد. مقاومت به آمپی‌سیلین- سولباکتام، تایژسیکلین و سیپروفلوکساسین به ترتیب ۱۷/۱٪، ۲۱٪ و ۳۳٪ بروز کرد. در مورد بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت بالای ۸۰٪ مشاهده گردید. همچنین نسبت به کولیستین، همه سویه‌ها حساس بودند. در ایتالیا (سال ۲۰۰۸) مطالعه بر روی ۴۵ سویه اسینتوباکتر بامانی نشان داد مقاومت به کلیستین، ۱٪؛ مقاومت به آمپی‌سیلین- سولباکتام، ۱۷٪؛ مقاومت به تایژسیکلین، ۴٪؛ مقاومت به سیپروفلوکساسین، ۹۵٪؛ مقاومت به ایمی‌پنم، ۵۰٪ و مقاومت به مروپنم، ۵۹٪ می‌باشد (۲۳). همچنین در مطالعه‌ای (سال ۱۳۹۲) که در غرب ایران انجام شد، مقاومت به آمپی‌سیلین – سولباکتام، ۳۳/۷٪؛ تایژسیکلین، ۲/۹٪؛ سیپروفلوکساسین، ۶۹/۲٪ و مقاومت به ایمی‌پنم و مروپنم به ترتیب ۸۳٪ و ۸۷٪ اعلام گردید (۲۴). در ایران (سال۲۰۰۹) مقاومت به تایژسیکلین، ۸/۸٪ گزارش شد (۱۵).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر و سایر مطالعات ارائه‌شده، ۳ داروی کولیستین، تایژسیکلین و آمپی‌سیلین – سولباکتام، داروهایی مؤثری علیه عفونت‌های اسینتوباکتر بامانی می‌باشند که می‌توان این عوامل را به‌عنوان انتخاب درمان سویه‌های مقاوم پیشنهاد کرد. هرچند میزان مقاومت به تایژسیکلین در این مطالعه بیشتر بود که علت بروز آن نیاز به بررسی بیشتری دارد. همچنین ایزوله‌های جداشده از نمونه‌های بالینی بیمارستان نمازی شهر شیراز نسبت به داروهای تایژسیکلین، آمپی‌سیلین - سولباکتام و سیپروفلوکساسین، مقاومت بالاتری را نسبت به تهران نشان دادند. ولی میزان حضور ژن‌های اگزاسیلیناز در دو بیمارستان تفاوت چشمگیری نداشت که به مطالعه بیشتری در آینده نیازمند است.

در میان سویه‌های مقاوم به ایمی‌پنم، ۸۶/۲٪ حامل ژن bla_{OXA-23} بودند.

بنابراین، شیوع بالای کاربا‌پنمازی‌های کلاس D را در میان این ایزوله‌ها می‌توان مسئول مقاومت به کاربا‌پنم‌های مورد بررسی دانست.

References:

1. Braun G, Vidotto MC. Evaluation of adherence, hemagglutination, and presence of genes codifying for virulence factors of Acinetobacter baumannii causing urinary tract infection. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004;99(8):839-44.

2. Camp C, Tatum OL. A review of Acinetobacter baumannii as a highly successful pathogen in times of war. Lab Med 2010;41(11):649-57.

3. Espinal P, Martí S, Vila J. Effect of biofilm formation on the survival of Acinetobacter baumannii on dry surfaces. J Hospl Infect 2012;80(1):56-60.

4. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of ISAba1 in expression of OXA carbapenemase genes in Acinetobacter baumannii. FEMS Microbiol Lett 2006;258(1):72-7.

5. Wareham D, Bean D, Khanna P, Hennessy E, Krahe D, Ely A, et al. Bloodstream infection due to Acinetobacter spp: Epidemiology, risk factors and impact of multi-drug resistance. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2008;27(7):607-12.

6. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in Acinetobacter spp. Int J Antimicrob Agent 2006;27(4):351-3.

7. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumannii: Emergence of a successful pathogen. Clin Microbio Rev 2008;21(3):538-82.

8. 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(8):2974-6.

9. Merkier AK, Centron D. Bla(OXA-51)-type beta-lactamase genes are ubiquitous and vary within a strain in Acinetobacter baumannii. Int J Antimicrob Agents 2006;28(2):110-3.

10. Hu WS, Yao S-M, Fung C-P, Hsieh Y-P, Liu C-P, Lin J-F. An OXA-66/OXA-51-like carbapenemase and possibly an efflux pump are associated with resistance to imipenem in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agent Chemother 2007;51(11):3844-52.

11. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard M02-A11, 11th ed.CLSI, Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

12. Kallen AJ, Hidron AI, Patel J, Srinivasan A. Multidrug resistance among Gram-negative pathogens that caused healthcare-associated infections reported to the national healthcare safety network, 2006-2008. Infect Control Hosp Epidemiol 2010;31(5):528-31.

13. Adams-Haduch JM, Onuoha EO, Bogdanovich T, Tian GB, Marschall J, Urban CM, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-nonsusceptible Acinetobacter baumannii in the United States. J Clin Microbiol 2011;49(11):3849-54.

14. Feizabadi M, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, Rasoolinejad M, Sadeghifard N, Aligholi M, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of blaOXA genes among Acinetobacter spp. Isolated from patients at Tehran hospitals. Jpn J Infect Dis 2008;61(4):274-8.

15. Taherikalani M, Fatolahzadeh B, Emaneini M, Soroush S, Feizabadi MM. Distribution of different carbapenem resistant clones of Acinetobacter baumannii in Tehran hospitals. New Microbiol 2009;32(3):265-71.

16. Shahcheraghi F, Abbasalipour M, Feizabadi M, Ebrahimipour G, Akbari N. Isolation and genetic characterization of metallo-β-lactamase and carbapenamase producing strains of Acinetobacter baumannii from patients at Tehran hospitals. Iran J Microbiol 2011;3(2):68-74.

17. Vahaboglu H, Budak F, Kasap M, Gacar G, Torol S, Karadenizli A, et al. High prevalence of OXA-51-type class D beta-lactamases among ceftazidime-resistant clinical isolates of Acinetobacter spp: Co-existence with OXA-58 in multiple centres. J Antimicrob Chemother 2006;58(3):537-4.

18. Lee YT, Fung CP, Wang FD, Chen CP, Chen TL, Cho WL. Outbreak of imipenem-resistant Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex harboring different carbapenemase gene-associated genetic structures in an intensive care unit. J Microb Immuno Infect 2012;45(1):43-51.

19. Safari M, Saidijam M, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. High Prevalence of multidrug resistance and Metallo-beta-lactamase (MβL) producing Acinetobacter baumannii isolated from patientsin ICU Wards, Hamadan, Iran. J Res Heal Sci 2013;13(2):162-7.

20. Andriamanantena TS, Ratsima E, Rakotonirina HC, Randrianirina F, Ramparany L, Carod J-F, et al. Dissemination of multidrug resistant Acinetobacter baumannii in various hospitals of antananarivo madagascar. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2010;9(1):17-21.

21. Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: The molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. J Infect Dev Count 2009;3(5):335-341.

22. 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(1):55-9.

23. Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F, Nicolosi VM, Nicolosi D, Carattoli A, et al. In vitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant Acinetobacter baumannii clinical isolates in Italy. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2008;7:4-8.

24. Mohajeri P, Farahani A, Feizabadi MM, Ketabi H, Abiri R, Najafi F. Antimicrobial susceptibility profiling and genomic diversity of Acinetobacter baumannii isolates: A study in western Iran. Iran J Microbiol 2013;5(3):195-202.

An Investigation of the Presence of Oxacillinase genes (bla_{OXA-51}, bla_{OXA-23}, bla_{OXA-58}, bla_{OXA-24}) in Acinetobacter baumannii Strains Isolated from Patients in Tehran Imam Khomeini Hospital and Shiraz Namazi Hospital, Iran

Maryam Rahmani[1], Nour Amirmozafari[2*], Mojgan Oshagi[3]

[1]MSc Student of Microbiology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[2]Professor of Microbiology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[3]Assistant Professor of Microbiology, Faculty of Paramedicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Corresponding Author:
Nour Amirmozafari,
Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Email:
amirmozafari@yahoo.com

Received: 8 Nov, 2014

Accepted: 26 Jan, 2015

Abstract

Background and Objectives*: Acinetobacter baumannii* is an opportunistic bacterium and a cause of infection in human. This bacterium has complicated the treatment process by becoming resistant to many antibiotics. One of the most important characteristics of this organism is resistance to carbapenems. There has been several reports regarding isolation of carbapenem resistance in *A. baumannii* in Iran. The aim of this study was to evaluate antibiotic resistance pattern and presence of oxacillinase in *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical specimens.

Methods: In this case cross-sectional study, a total of 140 isolates of *Acinetobacter baumannii* were collected from clinical specimens in Tehran Imam Khomeini Hospital and Shiraz Namazi Hospital, 2013-2014. The strains were identified using standard culturing, biochemical, and molecular methods. Antibiotic susceptibility test was performed by disk diffusion method against 12 different antibiotics, Then, multiplex PCR assay was used to detect the presence of 4 carbapenemase genes ($bla_{\text{OXA-23, 24, 51, 58}}$).

Results: Among the strains, a resistance above 80% was seen to imipenem, gentamicin, amikacin, co-trimoxazole, cefepime, ceftazidime, tetracycline, and rifampicin antibiotics. Also, the samples isolated from clinical specimens in Namazi Hospital of Shiraz city, showed higher resistance to tigecycline, ampicillin, sulbactam, and ciprofloxacin. The multiplex PCR technique showed that the presence of $bla_{\text{OXA-23,}}$ $bla_{\text{OXA-24}}$, and $bla_{\text{OXA-58}}$ genes were, respectively, 82.1%, 4.3%, and 0.7%. All 14 strains identified phenotypically, carried *bla*OXA$_{-51}$ gene.

Conclusion: According to the findings of this study, a resistance above 80% to the majority of antibiotics seen in our clinical isolates, emphasizes the necessity of using new drugs, such as tigecycline. Also, high presence (82.1%) of $bla_{\text{OXA-23}}$ among the carbapenem resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* emphasizes the importance of this gene in the induction of resistance.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*; Drug resistance, Microbial; Carbapenemase.