

# الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBL) در ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی

فرناز احمدی کیا<sup>۱</sup>(MSc)، احمد مصدق<sup>۲</sup>(MSc)، محمد مرادی<sup>۳</sup>(PhD)، حسین حسینی نوه<sup>۴</sup>(PhD)

۱- واحد بین‌الملل دانشگاه، علوم پزشکی یزد

۲- گروه میکروپزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یزد

۳- گروه میکروپزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دریافت: ۹۵/۹/۴، اصلاح: ۹۵/۱۱/۶، پذیرش: ۹۶/۱/۲۰

## خلاصه

**سابقه و هدف:** اسیتوباکتر بومانی یک پاتوژن فرصت‌طلب بیمارستانی است، که به تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتاماز که عمدتاً از طریق تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز می‌باشد، مقاوم است. هدف این مطالعه تعیین پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی و بررسی فراوانی ژن‌های بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL) در ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه مقطعی طی مدت ۸ ماه بر روی ۱۰۲ ایزوله اسیتوباکتر از نمونه‌های مختلف بالینی شامل ترشحات تنفسی، ادرار، خون و مایعات بدن از بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه (ICU)، جراحی، عفونی، ارتوپدی و سوختگی جمع‌آوری گردید و گونه اسیتوباکتر بومانی بر اساس PCR برای ژن *bla<sub>OXA-51</sub>* تعیین شد. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر اساس روش دیسک دیفیوژن و تشخیص ژن‌های *bla<sub>PER</sub>*، *bla<sub>SHV</sub>*، *bla<sub>TEM</sub>* و *bla<sub>CTX-M</sub>* با تکنیک PCR انجام شد. **یافته‌ها:** ژن *bla<sub>OXA-51</sub>* در ۹۵ ایزوله (۹۳/۱٪) مشاهده شد. همه ایزوله‌ها به سفیکسیم و سفوتاکسیم مقاوم بودند. مقاومت بالا نسبت به ایمی‌پنم، مروپنم، جنتامایسین، آمیکاسین، آزترونام، سیپروفلوکساسین، سفنازیدیم، لووفلوکساسین، تتراسایکلین و پپراسیلین/تازوباکتام مشاهده شد. همچنین ۶۱/۱٪ ایزوله‌ها به پلی‌میکسین B و ۲۳/۲٪ به تایجی‌سایکلین حساس بودند. در حالی که هیچ‌کدام از ایزوله‌ها دارای ژن *bla<sub>PER</sub>* نبودند، ۴۶/۳٪ دارای ژن *bla<sub>SHV</sub>*، ۳۱/۶٪ دارای ژن‌های *bla<sub>TEM</sub>* و *bla<sub>CTX-M</sub>* و ۱۳/۷٪ دارای ژن *bla<sub>VEB</sub>* بودند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه شیوع بالای ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی تولیدکننده ESBLs را نشان داد. بنابراین بکار بردن استراتژی‌های مناسب برای جلوگیری از پخش شدن عفونت توسط این ایزوله‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

**واژه‌های کلیدی:** اسیتوباکتر بومانی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بتالاکتامازهای وسیع الطیف.

## مقدمه

متصل شونده به پنی‌سیلین و افزایش فعالیت پمپ‌های افلاکس می‌باشد. مهم‌ترین مکانیسم مقاومت به سفالوسپورین‌های وسیع الطیف از طریق آنزیم‌های بتالاکتاماز می‌باشد (۴). طبق تقسیم‌بندی Ambler بتالاکتامازها در ۴ کلاس A، B، C و D قرار می‌گیرند (۵). در کلاس A تعداد زیادی از آنزیم‌های بتالاکتاماز که باعث مقاومت به سفالوسپورین‌های وسیع الطیف می‌شوند در گونه‌های اسیتوباکتر شناسایی شده‌اند. عمده این ژن‌های ESBL شامل *bla<sub>VEB</sub>* یا *bla<sub>PER</sub>* می‌باشند. هرچند ژن‌های *bla<sub>SHV</sub>*، *bla<sub>TEM</sub>* و *bla<sub>CTX-M</sub>* نیز در این گونه‌ها دیده شده است (۶). وجود بتالاکتامازهایی که قادرند بر طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتاماز تأثیر بگذارند انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های این خانواده را در درمان با چالش‌های زیادی مواجه کرده است. از طرفی مشخص شده ایزوله‌های تولیدکننده ESBL عمدتاً به آنتی‌بیوتیک‌های کلاس‌های دیگر مثل آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون‌ها، تتراسایکلین‌ها، کلرامفنیکل و تریمتوپریم-سولفامتوکسازول نیز مقاوم می‌باشند

اسیتوباکتر بومانی یکی از پاتوژن‌های با اهمیت در مراکز بهداشتی است که باعث عفونت‌های متعدد شامل باکتری، پنومونی، مننژیت، عفونت‌های ادراری و زخم می‌شود. توانایی زنده ماندن در رنج گسترده‌ای از شرایط محیطی این پاتوژن را به یکی از عوامل شایع ایجاد عفونت در مراکز بهداشتی تبدیل کرده است (۱). این باکتری سومین عامل بیماری‌زا زنده ماندن در رنج گسترده‌ای از شرایط محیطی این پاتوژن را به یکی از عوامل شایع ایجاد عفونت در مراکز بهداشتی تبدیل کرده است (۱). این باکتری سومین عامل بیماری‌زا زنده ماندن در رنج گسترده‌ای از شرایط محیطی این پاتوژن را به یکی از عوامل شایع ایجاد عفونت در مراکز بهداشتی تبدیل کرده است (۱). بیمارستان می‌باشد و عمدتاً از افراد بستری در بخش مراقبت‌های ویژه جداسازی می‌شود (۲). در طول دهه اخیر ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو (MDR) در جهان خصوصاً در کشورهای آسیایی رو به افزایش گذاشته است. سویه‌های MDR سویه‌هایی هستند که به بیش از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم باشند (۳). یک کلاس از آنتی‌بیوتیک‌ها که در درمان عفونت‌های ناشی از اسیتوباکتر بومانی اهمیت دارند آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتاماز می‌باشند. این باکتری از چندین طریق به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتاماز مقاوم می‌شود که شامل تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز، تغییر در پروتئین‌های غشا خارجی، تولید پروتئین‌های

این مقاله حاصل پایان نامه فرناز احمدی کیا دانشجوی کارشناسی ارشد رشته میکروپزشکی دانشگاه علوم پزشکی یزد می‌باشد.

\*مسئول مقاله: دکتر محمد مرادی

آدرس: کرمان، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه میکروپزشکی. تلفن: ۰۳۴-۳۳۲۵۷۶۶۵

E-mail: m\_moradie@yahoo.co.uk

(۱۰۰)، آمیکاسین (۳۰ μg)، جنتامایسین (۱۰ μg)، سفپیم (۳۰ μg)، تتراسایکلین (۳۰ μg)، تایجی سایکلین (۱۵ μg)، آزترونام (۳۰ μg)، پلی میکسین B (۳۰۰ μg)، لوفلوکساسین (۱۰ μg) و سیپروفلوکساسین (۵ μg) بودند که از شرکت Mast انگلستان خریداری شد. از سویه اشريشیاکلی ATCC 25922 به عنوان کنترل برای انجام آنتی بیوگرام استفاده شد.

**شناسایی فنوتیپی بتا لاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs):** از تست تأییدی فنوتیپی برای شناسایی ایزوله های تولیدکننده ESBLs استفاده شد. از دیسک های ترکیبی سفوتاکسیم/کلولانیک اسید در مقایسه با سفوتاکسیم، سفنازیدیم/کلولانیک اسید در مقایسه با سفنازیدیم و سفپیم/کلولانیک اسید در مقایسه با سفپیم استفاده گردید. بعد از انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت، ایزوله های تولیدکننده ESBLs دارای قطر هاله عدم رشد به اندازه ۵ میلی متر یا بیشتر در اطراف دیسک های سفنازیدیم/کلولانیک اسید در قیاس با سفنازیدیم و یا سفوتاکسیم/کلولانیک اسید در قیاس با سفوتاکسیم و یا سفپیم/کلولانیک اسید در قیاس با سفپیم بودند (۱۵). از سویه کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 به عنوان کنترل مثبت برای تست ESBLs استفاده شد.

**PCR جهت شناسایی ژن های *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>PER</sub>*, *bla<sub>VEB</sub>* و *bla<sub>CTX-M</sub>*:** تمامی ایزوله های مقاوم به سفالوسپورین های وسیع الطیف برای ژن های تولیدکننده ESBL مورد بررسی قرار گرفتند. در ابتدا با استفاده از روش جوشاندن DNA این ایزوله ها جداسازی شد (۱۶). برای انجام PCR از کیت مسترمیکس (شرکت آمپلیکون دانمارک) استفاده شد. توالی پرایمرهایی که مورد استفاده و اندازه باندهای محصولات بر روی ژل الکتروفورز براساس رفرنس می باشد (جدول ۱) (۱۷ و ۱۵). جهت انجام PCR حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر بود که شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۲ میکرولیتر از DNA باکتری، ۱۰ پیکومول از پرایمر و آب مقطر استریل بود. پس از انجام PCR محصولات PCR در ژل آگارز ۱٪ در TBE بافر به مدت ۶۰ دقیقه در ولتاژ ۱۰۰ الکتروفورز گردید، سپس نتایج توسط دستگاه Geldocument مشاهده شد.

جدول ۱. توالی پرایمر ها دمای آنیلینگ و اندازه محصولات PCR بر روی

ژل آگاروز (۱۷-۱۵)

| اندازه باند (bp) | دمای آنیلینگ | توالی پرایمر                                           | ژن    |
|------------------|--------------|--------------------------------------------------------|-------|
| ۵۵۰              | ۵۹           | F- CGCTTTGCGATGTGCAG<br>R- ACCGCGATATCGTTGGT           | CTX-M |
| ۸۶۱              | ۵۹           | F- GAGTATTCAACATTTCCGTGTC<br>R- TAATCAGTGAGGCACCTATCTC | TEM   |
| ۴۷۱              | ۵۶           | F- TCAGCGAAAAACACCTTG<br>R- TCCCGCAGATAAATCACC         | SHV   |
| ۹۳۳              | ۵۵           | F- AATTTGGGCTTAGGGCAGAA<br>R- ATGAATGTCATTATAAAAGC     | PER   |
| ۶۴۲              | ۵۵           | F- CGACTTCCATTTCCTCGATGC<br>R- GGACTCTGCAACAAATACGC    | VEB   |

#### یافته ها

از ۱۰۲ ایزوله اسیتوباکتر ۹۵ ایزوله (۹۳/۱٪) به عنوان اسیتوباکتر بومانی شناخته شدند. بر اساس نتایج حاصل از آنتی بیوگرام تمامی ایزوله ها به سفوتاکسیم و سفپیم مقاوم بودند. مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های ایمی پنم،

(۷). در مطالعه Alyamani و همکاران که بر روی ایزوله های اسیتوباکتر بومانی انجام شد ۸۱٪ ایزوله ها دارای ژن *bla<sub>CTX-M</sub>* و ۷۱٪ دارای ژن *bla<sub>TEM</sub>* بودند. هیچکدام از ایزوله ها ژن *bla<sub>SHV</sub>* را دارا نبودند (۸). در مطالعه ای دیگر که توسط Fallah و همکاران انجام شد ۷۸٪ ایزوله های اسیتوباکتر بومانی دارای ژن *bla<sub>PER</sub>* و ۳۹/۵٪ دارای ژن *bla<sub>VEB</sub>* بودند (۹).

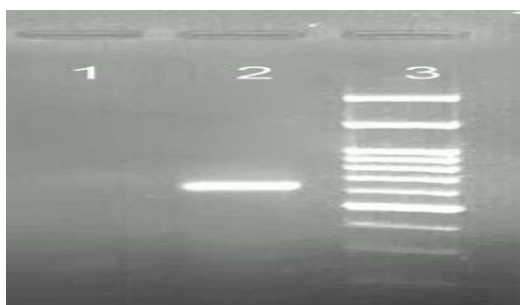
نتایج حاصل از یک مطالعه توسط Safari و همکاران نشان داد که *bla<sub>SHV</sub>* با ۵۸٪ بیشترین شیوع را در بین ایزوله های اسیتوباکتر بومانی داراست و پس از آن ژن *bla<sub>TEM</sub>* با ۲۰٪ قرار گرفت. هیچیک از ایزوله ها دارای ژن *bla<sub>CTX-M</sub>* نبودند (۱۰). به دلیل وجود سویه های MDR برای درمان ناشی از سویه های اسیتوباکتر بومانی از آنتی بیوتیک های غیرمتعارف مثل پلی میکسین ها، ریفامپین و تتراسایکلین ها خصوصاً در مورد ایزوله های مقاوم به کاربامپن ها استفاده می شود (۱۱). پلی میکسین ها اثرات جانبی شدیدی دارند، لیکن به دلیل اثر مناسب بر روی ایزوله های اسیتوباکتر بومانی برای درمان عفونت های شدید ناشی از سویه های MDR استفاده می شوند (۱۲). تایجی سایکلین یک اثر بسیار خوب در مقابل سویه های اسیتوباکتر بومانی دارد و مقاومت نسبت به آن نادر است. عمده ایزوله هایی که نسبت به تتراسایکلین مقاوم هستند، نسبت به تایجی سایکلین حساس می باشند. اغلب ایزوله های اسیتوباکتر مقاوم به کاربامپن ها نسبت به پلی میکسین ها و تایجی سایکلین حساس هستند، به همین دلیل مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۱).

در سالهای اخیر مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف در بین ایزوله های اسیتوباکتر بومانی رو به افزایش گذاشته است که منجر به شکست در روند درمان شده است. انتقال و انتشار ارگانیسم هایی که قادر به تولید آنزیم های دخیل در مقاومت آنتی بیوتیکی مثل بتا لاکتامازهای وسیع الطیف هستند باعث افزایش عفونت های بیمارستانی شده است. در نتیجه این مطالعه به منظور بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن های بتا لاکتامازی *bla<sub>PER</sub>*, *bla<sub>VEB</sub>*, *bla<sub>SHV</sub>* و *bla<sub>CTX-M</sub>* انجام شد.

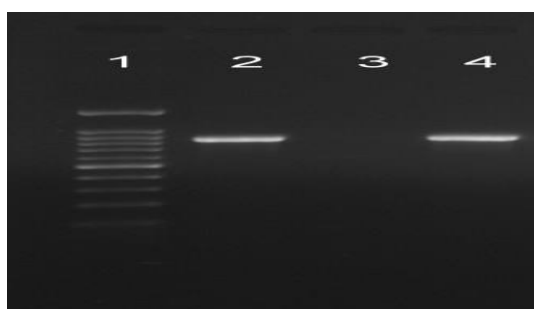
#### مواد و روش ها

**جداسازی و شناسایی باکتری:** در این مطالعه مقطعی تعداد ۱۰۲ ایزوله اسیتوباکتر از بیمارستان های شهر کرمان از تاریخ مهر ۱۳۹۴ تا اردیبهشت ۱۳۹۵ جمع آوری شد. ایزوله هایی باکتریایی از نمونه های ترشحات تنفسی (۸۲ ایزوله)، زخم (۸ ایزوله)، سوختگی (۴ ایزوله)، ادرار (۸ ایزوله) و مایعات بدن (۲ ایزوله) از بیماران بستری در بخش های مراقبت ویژه (ICU)، جراحی، عفونی، ارتوپدی و سوختگی جداسازی گردید. این ایزوله ها به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی کرمان انتقال داده شدند. باکتری اسیتوباکتر بر طبق روش های استاندارد تشخیصی و بیوشیمیایی همچون تست اکسیداز، SIM، TSI، سیمون سیترات، اوره و لیزین دکربوکسیلاز تأیید گردید (۱۳). برای تشخیص گونه اسیتوباکتر بومانی از PCR برای ژن *bla<sub>OXA-51</sub>* استفاده شد.

**تست تعیین حساسیت دارویی (آنتی بیوگرام):** الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های جداس شده به روش دیسک دیفیوژن و بر طبق استاندارد (Clinical and laboratory standard institute) (CLSI) انجام شد (۱۴). دیسک های مورد استفاده شامل ایمی پنم (۱۰ μg)، مروپنم (۱۰ μg)، سفنازیدیم (۳۰ μg)، سفوتاکسیم (۳۰ μg)، پیراسیلین/تازوباکتام (۱۰ μg/۱۰ μg)



شکل ۲. تصویر ژل الکتروفورز PCR ژن VEB ایزوله‌های اسپیتوباکتر بومانی.  
ستون ۱ کنترل منفی، ستون ۲ کنترل مثبت، ستون ۳ سایز مارکر ۱۰۰ bp



شکل ۳. تصویر ژل الکتروفورز PCR ژن TEM ایزوله‌های اسپیتوباکتر بومانی. ستون ۱ سایز مارکر ۱۰۰ bp، ستون ۲ کنترل مثبت، ستون ۳ کنترل منفی، ستون ۴ ایزوله مثبت



شکل ۴. تصویر ژل الکتروفورز PCR ژن CTX-M ایزوله‌های اسپیتوباکتر بومانی. ستون ۱ سایز مارکر ۱۰۰ bp، ستون ۲ کنترل مثبت، ستون ۳ کنترل منفی، ستون ۴ ایزوله مثبت

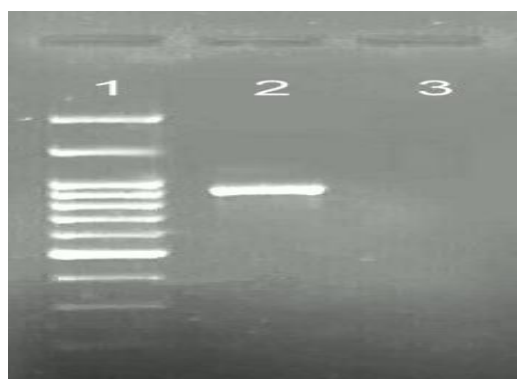


شکل ۵. تصویر ژل الکتروفورز PCR ژن SHV ایزوله‌های اسپیتوباکتر بومانی.  
ستون ۱ سایز مارکر ۱۰۰ bp، ستون ۲ کنترل منفی، ستون ۳ کنترل مثبت، ستون ۴ ایزوله مثبت

مروپنم، سفنازیدیم، پپراسیلین/تازوباکتام، آمیکاسین، جنتامایسین، تتراسایکلین، آزترونام، لووفلوکساسین و سیپروفلوکساسین در سطح بسیار بالایی بود (جدول ۲). مؤثرترین آنتی‌بیوتیک علیه ایزوله‌های اسپیتوباکتر بومانی آنتی‌بیوتیک پلی‌میکسین B بود به طوری که ۶۱/۱٪ ایزوله‌ها به این آنتی‌بیوتیک حساس بودند. از ۹۵ ایزوله اسپیتوباکتر بومانی ۹۴ ایزوله (۹۸/۹٪) به بیش از سه کلاس آنتی‌بیوتیک مقاوم بوده و به عنوان MDR شناخته شدند. نتایج به دست آمده از تست دیسک ترکیبی نشان داد که تنها سه ایزوله (۳/۱٪) به طور فنوتیپی تولیدکننده ESBL بودند. لیکن بعد از انجام PCR برای ایزوله‌های مقاوم به سفالوسپورین‌های وسیع الطیف که در واقع شامل تمامی ایزوله‌ها می‌شد، مشخص گردید که ۷۳/۷٪ از ایزوله دارای حداقل یکی از ژن‌های تولیدکننده ESBL هستند. تصاویر مربوط به ژل الکتروفورز محصولات این ژن‌ها در شکل‌های (۵-۱) قابل مشاهده می‌باشد. بیشترین ژن ESBL مربوط به *bla<sub>SHV</sub>* بود که ۴۴ ایزوله (۴۶/۳٪) دارای این ژن بودند. پس از آن ژن‌های *bla<sub>TEM</sub>* و *bla<sub>CTX-M</sub>* در ۳۰ ایزوله (۳۱/۶٪) مشاهده گردید. درحالی‌که ۱۳ ایزوله (۱۳/۷٪) دارای ژن *bla<sub>VEB</sub>* بودند هیچ ایزوله‌ای دارای ژن *bla<sub>PER</sub>* نبود.

جدول ۲. درصد مقاومت ایزوله‌های اسپیتوباکتر بومانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

| آنتی‌بیوتیک          | حساس<br>تعداد (درصد) | نیمه حساس<br>تعداد (درصد) | مقاوم<br>تعداد (درصد) |
|----------------------|----------------------|---------------------------|-----------------------|
| سفوتاکسیم            | ۰ (۰)                | ۰ (۰)                     | ۹۵ (۱۰۰)              |
| سفنازیدیم            | ۱ (۱/۱)              | ۰ (۰)                     | ۹۴ (۹۸/۹)             |
| سفپیم                | ۰ (۰)                | ۰ (۰)                     | ۹۵ (۱۰۰)              |
| آزترونام             | ۱ (۱/۱)              | ۰ (۰)                     | ۹۴ (۹۸/۹)             |
| ایمپنیم              | ۲ (۲/۱)              | ۰ (۰)                     | ۹۳ (۹۷/۹)             |
| مروپنم               | ۲ (۲/۱)              | ۰ (۰)                     | ۹۳ (۹۷/۹)             |
| جنتامایسین           | ۰ (۰)                | ۰ (۳/۲)                   | ۹۲ (۹۶/۸)             |
| آمیکاسین             | ۰ (۰)                | ۱ (۱/۱)                   | ۹۴ (۹۸/۹)             |
| سیپروفلوکساسین       | ۲ (۲/۱)              | ۱ (۱)                     | ۹۳ (۹۷/۹)             |
| لووفلوکساسین         | ۴ (۴/۲)              | ۲۰ (۲۱/۱)                 | ۷۱ (۷۴/۷)             |
| تتراسایکلین          | ۳ (۳/۲)              | ۲۰ (۲۱/۱)                 | ۸۶ (۹۰/۵)             |
| تایجی‌سایکلین        | ۲۲ (۲۳/۲)            | ۳۹ (۴۱/۱)                 | ۳۴ (۳۵/۸)             |
| پپراسیلین/تازوباکتام | ۱ (۱/۱)              | ۱ (۱/۱)                   | ۹۳ (۹۷/۹)             |
| پلی‌میکسین B         | ۵۸ (۶۱/۱)            | ۰ (۰)                     | ۳۷ (۳۸/۹)             |



شکل ۱. تصویر ژل الکتروفورز PCR ژن PER ایزوله‌های اسپیتوباکتر بومانی.  
ستون ۱ سایز مارکر ۱۰۰ bp، ستون ۲ کنترل مثبت، ستون ۳ کنترل منفی

## بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر از ۱۰۲ ایزوله اسیتوباکتر ۹۵ ایزوله (۹۳٪) دارای ژن *bla*<sub>OXA-51</sub> بودند و در نتیجه به عنوان اسیتوباکتر بومانی شناخته شدند. به دلیل اهمیت اسیتوباکتر بومانی تشخیص آن از دیگر اعضا جنس با ارزش می باشد. چون *bla*<sub>OXA-51</sub> به طور ثابت و منحصر به فرد در اسیتوباکتر بومانی دیده می شود این ژن می تواند برای تشخیص ایزوله های اسیتوباکتر بومانی استفاده شود؛ که علاوه بر ساده بودن از دقت بالاتری نسبت به تست های بیوشیمیایی برخوردار است (۱۱). در مطالعه ای که در ترکیه بر اساس ژن *bla*<sub>OXA-51</sub> انجام شد ۷۷/۸٪ از ایزوله های اسیتوباکتر دارای ژن *bla*<sub>OXA-51</sub> بوده و به عنوان اسیتوباکتر بومانی تشخیص داده شدند (۱۸). در مطالعه ای دیگر در انگلستان تمامی ۱۴۴ سویه اسیتوباکتر بومانی دارای ژن *bla*<sub>OXA-51</sub> بودند در حالی که ۲۲ سویه اسیتوباکتر غیر از جنس اسیتوباکتر بومانی فاقد این ژن بودند (۱۹).

مقاومت آنتی بیوتیکی در اسیتوباکتر بومانی تبدیل به یک مشکل جهانی شده است. ظهور ایزوله های MDR اسیتوباکتر بومانی باعث ایجاد مشکلات متعددی در درمان این ایزوله ها گردیده است. ایزوله های MDR اسیتوباکتر بومانی به سرعت از نقاط مختلف جهان در حال گزارش می باشد. در مطالعه حاضر نیز ۹۸/۹٪ از ایزوله ها به عنوان MDR شناخته شدند. در تعداد زیادی از مطالعات قبلی نیز سویه های MDR درصد بالایی از سویه های اسیتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه های بالینی را تشکیل داده است (۲۲-۲۰). تا همین اواخر کاربانه ها به عنوان بهترین گزینه برای درمان ایزوله های MDR اسیتوباکتر بومانی بودند. لیکن به نظر می رسد دیگر این دسته از آنتی بیوتیک ها کارایی لازم برای درمان عفونت های ناشی از این ایزوله ها را دارا نمی باشند. مقاومت نسبت به ایمی پنم و مروپنم در مطالعه حاضر بسیار بالا بود به طوری که ۹۷/۹٪ ایزوله ها نسبت به این آنتی بیوتیک ها مقاوم بودند. این نتیجه با نتایج به دست آمده از مطالعات زیادی مشابهت دارد (۲۳ و ۲۰). در تعدادی از گزارشات قبلی مقاومت نسبت به آمیکاسین و لووفلوکساسین در سطح پایین تری نسبت به مطالعه حاضر گزارش شده است (۲ و ۱۱). لیکن در دیگر مطالعات همانند این مطالعه درصد بالایی از ایزوله های اسیتوباکتر بومانی به این آنتی بیوتیک ها مقاوم بودند (۲۵ و ۲۴).

بر اساس این مطالعه علاوه بر کاربانه ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون ها نیز دیگر کارایی لازم برای درمان عفونت های ناشی از اسیتوباکتر بومانی را دارا نمی باشند. اگرچه مقاومت نسبت به تایجی سایکلین نسبت به اکثر آنتی بیوتیک ها در سطح پایین تری بود لیکن به دلیل اهمیت این آنتی بیوتیک در درمان سویه های MDR اسیتوباکتر بومانی همچنین بالاتر بودن میزان مقاومت ایزوله ها به این آنتی بیوتیک در قیاس با دیگر مطالعات نگران کننده می باشد (۲۴ و ۲۱ و ۱).

همچنین میزان مقاومت به پلی میکسین B در ایزوله های اسیتوباکتر بومانی در سطح بالایی بود به طوری که ۳۸/۹٪ از ایزوله ها به این آنتی بیوتیک مقاوم بودند. پلی میکسین ها به عنوان آخرین خط درمانی ایزوله های MDR اسیتوباکتر بومانی می باشند در نتیجه درمان ایزوله های اسیتوباکتر بومانی مقاوم به این آنتی بیوتیک ها بسیار مشکل است (۲۶). هر چند میزان مقاومت نسبت به پلی میکسین ها در کشورهای آسیایی و اروپایی به نسبت ایالات متحده آمریکا و

کشورهای آمریکای لاتین در سطح بالاتری است، با این حال این میزان مقاومت در کشور ایران نگران کننده است (۲۶). در مطالعه ما تمامی ایزوله ها به سفالوسپورین های وسیع الطیف مقاوم بودند. این داده با توجه به نتایج به دست آمده در دیگر مطالعات دور از انتظار نبود (۲۷ و ۲۴ و ۲۱ و ۴). در مطالعه ما تنها سه ایزوله اسیتوباکتر بومانی بر اساس تست فنوتیپی تولیدکننده ESBL بودند. در بسیاری از مطالعات دیگر نیز شیوع ایزوله های اسیتوباکتر تولیدکننده ESBL پایین گزارش شده است (۲۹ و ۲۸ و ۱). لیکن در مطالعه ای توسط Singla و همکاران نشان داده شد اگر به جای کلاولانیک اسید از سولباکتام استفاده شود ایزوله های تولیدکننده ESBL بهتر تشخیص داده می شوند. دلیل این موضوع این است که کلاولانیک اسید برخلاف سولباکتام باعث القای تولید AmpC شده و AmpC باعث هیدرولیز آنتی بیوتیک های بتا لاکتام می شود. در نتیجه با وجود ESBL نتیجه به صورت منفی کاذب مشاهده می شود (۳۰).

در مطالعه حاضر ژن های *bla*<sub>TEM</sub>، *bla*<sub>SHV</sub> و *bla*<sub>CTX-M</sub> از شیوع بالاتری برخوردار بودند. در مطالعات مختلف شیوع ژن های ESBL در ایزوله های اسیتوباکتر بومانی متفاوت می باشد. در تعدادی از مطالعات ژن های *bla*<sub>PER</sub> و *bla*<sub>VEB</sub> به عنوان مهم ترین ژن های ESBL در ایزوله های اسیتوباکتر بومانی ذکر شده اند (۶). لیکن این تفاوت در شیوع ژن ها می تواند ناشی از تفاوت در موقعیت اکولوژیک، تفاوت در برنامه درمان آنتی بیوتیکی و تفاوت در الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در مکان های مختلف باشد (۳۱). نتایج این مطالعه نشان داد که *bla*<sub>SHV</sub> به عنوان شایع ترین ژن ESBL در ایزوله های اسیتوباکتر بومانی در کرمان می باشد. این داده مشابه با نتیجه Safari و همکاران بود که *bla*<sub>SHV</sub> با ۵۸٪ به عنوان شایع ترین ESBL شناخته شد. همچنین در آن مطالعه *bla*<sub>TEM</sub> در ۲۰٪ ایزوله ها دیده شد که تا حد زیادی با مطالعه ما مشابه می باشد لیکن برخلاف مطالعه ما ژن *bla*<sub>CTX-M</sub> در هیچ یک از ایزوله ها دیده نشد (۱۰).

در مطالعه ای دیگر توسط Al-Agamy در مصر برخلاف مطالعه حاضر ژن *bla*<sub>TEM</sub> با ۸۷/۵٪ و ژن *bla*<sub>PER</sub> در ۵۵٪ ایزوله های اسیتوباکتر بومانی دیده شد. همچنین این ایزوله ها از نظر ژن های *bla*<sub>SHV</sub> و *bla*<sub>CTX-M</sub> منفی بودند (۴). در مطالعه حاضر ژن *bla*<sub>PER</sub> در هیچ یک از ایزوله ها مشاهده نشد که این موضوع برخلاف بسیاری از مطالعات می باشد که ژن *bla*<sub>PER</sub> به عنوان یکی از شایع ترین ژن های ESBL در ایزوله های اسیتوباکتر بومانی شناخته می شود (۳۳ و ۳۲). این مطالعه نشان داد که ایزوله های اسیتوباکتر بومانی مقاومت بالایی نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف دارند و آنزیم های بتا لاکتاماز وسیع الطیف (*ESBL*) نقش مهمی در ایجاد مقاومت ایفا می کنند. به نظر می رسد اتخاذ یک روش درمانی جدید و به کار بردن استراتژی های مناسب برای جلوگیری از پخش شدن عفونت توسط ایزوله های MDR اسیتوباکتر بومانی ضروری می باشد.

## تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به دلیل حمایت مالی و اجرایی از این تحقیق تشکر و قدردانی می گردد.

## Antimicrobial Resistance Patterns and Frequency of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Genes among *Acinetobacter Baumannii*

F. Ahmadikiya (MSc)<sup>1</sup>, A. Mosadegh (MSc)<sup>2</sup>, M. Moradi (PhD)<sup>\*3</sup>, H. Hossieni-Nave (PhD)<sup>3</sup>

1. Yazd University of Medical Sciences, International Branch, Yazd, I.R.Iran

2. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Yazd University of Medical Sciences, Yazd, I.R.Iran

3. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 19(7); Jul 2017; PP: 28-34

Received: Nov 24<sup>th</sup> 2016, Revised: Jan 25<sup>th</sup> 2017, Accepted: Apr 9<sup>th</sup> 2017.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** *Acinetobacter baumannii* is an opportunistic pathogen that is resistant to many antibiotics including beta-lactams. Production of  $\beta$ -lactamases is the main mechanism of  $\beta$ -lactam resistance in *A. baumannii*. The aim of the present study was to determine the antimicrobial susceptibility profile and frequency of ESBL genes in clinical isolates of *A. baumannii* in hospitals in Kerman, Iran.

**METHODS:** In this cross-sectional study 102 isolates of *Acinetobacter* species were collected from clinical specimens, including, respiratory secretions, urine, blood culture and body fluid. For confirming *A. baumannii* Polymerase chain reaction (PCR) was used to identify blaOXA-51 gene. Antimicrobial susceptibility test was performed using the disk diffusion method. PCR technique was carried out for the detection of blaCTX-M, blaSHV, blaTEM, blaPER and blaVEB genes.

**FINDINGS:** blaOXA-51 gene was detected in 95 (93/1%) isolates. All of the isolates were resistant to Cefepime and Cefotaxime. Almost all of them were resistant to Imipenem, Meropenem, Gentamicin, Amikacin, Aztreonam, Ciprofloxacin, Ceftazidim, Levofloxacin, Tetracycline and Piperacillin-Tazobactam. The rates of susceptibility to Polymyxin-B and Tigecycline were 61/1% and 23/2%, respectively. The frequency of, blaSHV, blaTEM, blaCTX-M and blaVEB genes were 44 (46.3%), 30 (31.6%), 30 (31.6%), and 13 (13.7%), respectively. None of the isolates were carried blaPER gene.

**CONCLUSION:** Because of the high rate of ESBLs producing *A. baumannii* isolates detected in this study, effective infection control strategy should be performed.

**KEY WORDS:** *Acinetobacter baumannii*, Antimicrobial resistance, Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases.

Please cite this article as follows:

Ahmadikiya F, Mosadegh A, Moradi M, Hossieni-Nave H. Antimicrobial Resistance Patterns and Frequency of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Genes among *Acinetobacter Baumannii*. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(7):28-34.

\* Corresponding author: M. Moradi (PhD).

Address: Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, I.R.Iran

Tel: +98 34 33257665

E-mail: m\_moradie@yahoo.co.uk

## References

1. Amudhan SM, Sekar U, Arunagiri K, Sekar B. OXA beta-lactamase-mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Indian J Med Microbiol*. 2011;29(3):269-74.
2. 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.
3. Vakili B, Fazeli H, Shoaee P, Yaran M, Ataei B, Khorvash F, et al. Detection of colistin sensitivity in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Iran. *J Res Med Sci*. 2014;19(1):2-3.
4. Al-Agamy MH, Khalaf NG, Tawfick MM, Shibl AM, Kholy A El. Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacter baumannii* in Egypt. *Int J Infect Dis*. 2014;22:49-54.
5. S. Bostandoost Nikoo, M.H. Shahhosseini, M.R. Zolfaghari MR. Early detection of blaTEM in *Klebsiella* isolates by the molecular polymerase chain reaction method. *J Babol Univ Med Sci*. 2013;17(10):46-52.[In Persian].
6. Potron A, Munoz-Price LS, Nordmann P, Cleary T, Poirel L. Genetic features of CTX-M-15-producing *Acinetobacter baumannii* from Haiti. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(12):5946-8.
7. Litake GM, Ghole VS, Niphadkar KB, Joshi SG. Phenotypic ESBL Detection in *Acinetobacter baumannii*: A Real Challenge. *Am J Infect Dis*. 2015;11(3):48-53.
8. Alyamani EJ, Khiyami MA, Booq RY, Alnafjan BM, Altammami MA, Bahwerth FS. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) produced by clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Saudi Arabia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2015;14(1):38.
9. Fallah F, Noori M, Hashemi A, Goudarzi H, Karimi A, Erfanimanesh S, et al. Prevalence of blaNDM, blaPER, blaVEB, blaIMP, and blaVIM Genes among *Acinetobacter baumannii* Isolated from Two Hospitals of Tehran, Iran. *Scientifica(Cairo)*. 2014;2014:1-6.
10. Safari M, Mozaffari Nejad AS, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. Prevalence of ESBL and MBL encoding genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients of intensive care units (ICU). *Saudi J Biol Sci*. 2015;22(4):424-9.
11. Karmostaj A, Peerayeh SN, Salmanian AH. Emergence of tigecycline resistant *Acinetobacter baumannii* from an Intensive Care Unit (ICU) in Tehran. *Jundishapur J Microbiol*. 2013;6(3):215-9.
12. Genteluci GL, Gomes DBC, Carvalho KR. Emergence of polymyxin B-resistant *Acinetobacter baumannii* in hospitals in Rio de Janeiro. *J Brasil Patol Med Lab*. 2016;(2):91-5.
13. Gupta N, Gandham N, Jadhav S, Mishra RN. Isolation and identification of *Acinetobacter* species with special reference to antibiotic resistance. *J Nat Sci Biol Med*. 2015;6(1):159-62.
14. Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fourth informational supplement M100eS24. Wayne, PA: CLSI; 2014. Available From: <https://clsi.org/blog/clsi-publishes-new-antimicrobial-susceptibility-testing-standards/>
15. Mohebi S, Nave HH, Norouzi A, Gharaman MK, Moghadam MT, Medical K. Detection of Extended Spectrum Beta Lactamases on Class I Integron in *Escherichia coli* Isolated from Clinical Samples Samane. *J Maz Univ Med Sci*. 2016;26(138):66-76. [In Persian].
16. Hosseini Nave H, Mansouri S, Emameini M, Moradi M. Distribution of genes encoding virulence factors and molecular analysis of *Shigella* spp. isolated from patients with diarrhea in Kerman, Iran. *Microb Pathog*. 2016;92:68-71.
17. Alikhani MY, Tabar ZK, Mihani F, Kalantar E, Karami P, Sadeghi M, et al. Antimicrobial resistance patterns and prevalence of blaPER-1 and blaVEB-1 genes among ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in West of Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2014;7(1): 8888.
18. 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):537-42.
19. 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.
20. Fazeli H, Taraghian A, Kamali R, Poursina F, Nasr Esfahani B, Moghim S. Molecular Identification and Antimicrobial Resistance Profile of *Acinetobacter baumannii* Isolated From Nosocomial Infections of a Teaching Hospital in Isfahan, Iran. *Avicenna J Clin Microbiol Infect*. 2014;1(3):1-5.

21. Bahador A, Raoofian R, Farshadzadeh Z, Beitollahi L, Khaledi A, Rahimi S, et al. The Prevalence of ISAbal and ISAb4 in *Acinetobacter baumannii* Species of Different International Clone Lineages Among Patients With Burning in Tehran, Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2015;8(6):e17167.
22. Bazargani A, Hashemizadeh Z. Bacteremia due to multidrug-resistant (MDR) and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Acinetobacter baumannii*. *African J Microbiol Res*. 2011;5(21):3483-6.
23. Goudarzi H, Douraghi M, Ghalavand Z, Goudarzi M. Assessment of antibiotic resistance pattern in *Acinetobacter baumannii* carrying bla<sub>oxA</sub> type genes isolated from hospitalized patients. *Nov Biomed*. 2013;1(2):54-61.
24. Azizi O, Shakibaie MR, Modarresi F, Shahcheraghi F. Molecular detection of class-D OXA carbapenemase genes in biofilm and non-biofilm forming clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Jundishapur J Microbiol*. 2015;8(1):21042.
25. Vijayakumar S, Gopi R, Gunasekaran P, Bharathy M, Walia K, Anandan S, et al. Molecular Characterization of Invasive Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* from a Tertiary Care Hospital in South India. *Infect Dis Ther*. 2016;5(3):379-87.
26. Sepahvand V, Davarpanah MA, Hejazi SH. Epidemiology of Colistin-Resistant *Acinetobacter Baumannii* in. 2015;5(5):45-8.
27. A. Rahimzadeh, S. Farajnia, A.A. Pourbabaee, Kh. Ansarin, M.R. Zolfaghari NM. Detection of Prevalence of OXA-2 and OXA-10 type ESBL and class I integron among *acinetobacter baumannii* strains isolated from patients of tabriz city (Iran) by PCR technique A. *J Babol Univ Med Sci*. 2012;14(5):56-63.[In Persian].
28. Jazani NHH, Babazadeh H, Sohrabpour M, Zartoshti M, Ghasemi-Rad M. The prevalence of extended spectrum beta-lactamases in *acinetobacter baumannii* isolates from burn wounds in Iran. *Internet J Microbiol*. 2011;9(2):1-6.
29. Shakibaie MR, Adeli S, Salehi MH. Antibiotic resistance patterns and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production among *Acinetobacter* spp. isolated from an intensive care Unit of a hospital in Kerman, Iran. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2012;1(1):1.
30. Singla P. Co-production of ESBL and ampC  $\beta$ -Lactamases in clinical isolates of *a. baumannii* and *A. lwoffii* in a tertiary care hospital from northern india. *J Clin Diagnostic Res*. 2014;8(4):8–11.
31. Azimi L, Talebi M, Pourshafie M-R, Owlia P, Rastegar Lari A. Characterization of carbapenemases in extensively drug resistance *acinetobacter baumannii* in a burn care center in Iran. *Int J Mol Cell Med*. 2015;4(1):46-53.[In Persian]
32. Fallah F, Noori M, Hashemi A, Goudarzi H, Karimi A, Erfanimesh S, et al. Prevalence of bla<sub>NDM</sub>, bla<sub>PER</sub>, bla<sub>VEB</sub>, bla<sub>IMP</sub>, and bla<sub>VIM</sub> Genes among *Acinetobacter baumannii* Isolated from Two Hospitals of Tehran, Iran. *Scientifica*. 2014;15(2014):1-6.
33. Farajnia S, Azhari F, Alikhani MY, Hosseini MK, Peymani A, Sohrabi N. Prevalence of PER and VEB type extended spectrum betalactamases among multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in North-West of Iran. *Iran J Basic Med Sci*. 2013;16(6):751-5.