

بررسی مقاومت آنتیبیوتیکی و فراوانی ژن‌های اگزاسیلینازی bla_{OXA-24} و bla_{OXA-23} در جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های تراشه بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه

مصطفی قالبی^۱، گیلدا اسلامی^۲، هنگامه زندی^{*}^۳، آرمین فرهنگ^۴، محمود وکیلی^۵، نسیم محمدی^۶، امین دهقان بنادکوکی^۷

چکیده

مقدمه: اسینتوباکتر بومانی، کوکوباسیل گرم منفی غیرتخمیری است که در بخش‌های مراقبت ویژه (ICU) شیوع دارد. جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کاربپنیم در سراسر جهان گزارش شده است. بتالاکتمازهای اگزاسیلینازی در مقاومت این باکتری به کاربپنیم‌ها نقش دارند. هدف این مطالعه بررسی الگوی مقاومت آنتیبیوتیکی و فراوانی ژن‌های bla_{OXA-23} و bla_{OXA-24} در اسینتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه تراشه بیماران بستری در ICU بیمارستان‌های شهر اصفهان است.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی- مقطعی ۴۰ جدایه اسینتوباکتر بومانی از کشت نمونه‌های تراشه بیماران بستری در ICU بیمارستان‌های شهر اصفهان طی سال ۱۳۹۴ کسب و توسط روش‌های بیوشیمیایی و ژن bla_{OXA-51} شناسایی شدند. الگوی مقاومت آنتیبیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC) ایمپینم به روش Etest بر اساس CLSI2015 تعیین و ژن‌های bla_{OXA-23} و bla_{OXA-24} در جدایه‌های مقاوم به کاربپنیم به روش PCR ردیابی شد. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS(v.16) و آزمون‌های آماری تحلیل شد.

نتایج: کلیه جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی نسبت به سفتاریدیم، سفتریاکسون، مروپن و ایمپینم مقاوم بودند و کمترین مقاومت به bla_{OXA-23} ترتیب نسبت به کلیستین (۰٪) و تایگی سایکلین (۱۰٪) بود. کلیه نمونه‌ها دارای MIC $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ ایمپینم بودند. ژن‌های bla_{OXA-24} به ترتیب در ۸۷/۵٪ و ۲۵٪ جدایه‌ها ردیابی شد.

نتیجه‌گیری: درمان عفونت اسینتوباکتر بومانی توسط کاربپنیم‌ها به دلیل مقاومت بالا ناکارآمد است و توصیه می‌شود از آنتیبیوتیک‌های تایگی سایکلین و در خط آخر درمان جدایه‌های با مقاومت بالا کلیستین استفاده شود. مطالعاتی دیگری در خصوص مکانیسم‌های دیگر مقاومت به کاربپنیم‌ها نیز الزامی است.

واژه‌های کلیدی: اسینتوباکتر بومانی، بخش مراقبت‌های ویژه، مقاومت آنتیبیوتیکی، کاربپنیم، اگزاسیلیناز

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده پرديس بين الملل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
- ۲- استادیار، مرکز تحقیقات سلامت و اینمنی غذا، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
- ۳- کارشناس ارشد، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
- ۴- دانشیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
- ۵- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اشکذر
- ۶- کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
- ۷- این مقاله استخراج شده از پایان‌نامه در مقطع کارشناسی ارشد پرديس بين الملل دانشگاه علوم پزشکی می‌باشد.

*نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۳۵۱۸۲۴۱۷۵۱ - ۰۳۵۱۸۲۴۱۷۵۱، پست الکترونیکی: hengameh_zandi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۳۰

مقدمه

کلاس D (اگزاسیلیناز کرباپنماز) است (۲۰۸). ژن‌های oxa type سبب تولید بتالاکتماماز کلاس D آمبler می‌شوند (۹،۱۰). بتالاکتمامازهای OXA، دارای فعالیت بسیار زیاد هیدرولیتیکی علیه اگزاسیلین و کلوگزاسیلین هستند و به طور ضعیف توسط کلاولانیک اسید مهار می‌شوند و در این باکتری‌ها سهم بسیار قابل توجهی را در مقاومت به کارباپنمازها به عهده دارند (۱۱،۱۲).

با توجه به افزایش شیوع جدایه‌های MDR اسینتوباکتربومانی در مناطق جغرافیایی مختلف، شناسایی و ردیابی جدایه‌های مولد کارباپنمازی مختلف مانند اگزاسیلینازها می‌تواند گام مهمی در درمان عفونت‌های ناشی از آن‌ها و کنترل عفونت‌های بیمارستانی به شمار آید. هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن‌های اگزاسیلینازی *bla_{OXA-23}* و *bla_{OXA-24}* در اسینتوباکتر بومانی ICU جدا شده از نمونه‌های تراشه بیماران بستری در بخش‌های بیمارستان‌های شهر اصفهان است.

روش بررسی

جمع‌آوری نمونه

در این مطالعه توصیفی- مقطعي، از فروردین ماه تا پایان اسفند ماه سال ۱۳۹۴، از آزمایشگاه‌های بیمارستان‌های شهر اصفهان پلیت‌های حاوی پرگنه‌های باسیل‌های گرم منفی و لاکتوز مثبت حاصل از کشت نمونه‌های تراشه بیماران بستری بخش‌های مراقبت ویژه (ICU) جمع‌آوری و جهت آزمایش‌های بعدی به پرديس بين‌الملل دانشگاه علوم پزشكى شهيد صدوقي يزد منتقل گردید.

تعیین هویت جدایه‌ها

پس از کشت نمونه در محیط مک کانکی آگار و نگهداری در دمای 35°C به مدت ۲۴ ساعت، پرگنه‌های لاکتوز منفی با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های کاتالاز، اکسیداز، رشد در دمای 42°C و محیط‌های کشت محیط OF، TSI، سیمون سیترات و مالونات سدیم شناسایی شدند (۲،۱۳). جهت تایید مولکولی جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی از ژن *bla_{OXA-51}*

جنس اسینتوباکتر به طور وسیعی در آب و خاک یافت می‌شود و نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های انسانی دارد. گونه اسینتوباکتربومانی به دلیل پراکندگی آن در بیمارستان و انتقال به بیماران بستری، به طور عمده از نمونه‌های انسانی و محیط بیمارستان جدا می‌شود (۱،۲). اسینتوباکتربومانی کوکوباسیل گرم منفی هوازی، غیر تخمیری و اکسیداز منفی است (۲). این باکتری می‌تواند در بیماران بستری در بخش مراقبت ویژه (ICU) باعث عفونت‌هایی مانند پنومونی مرتبط با ونتیلاتور، باکتریمی، عفونت‌های ادراری و برخی دیگر از عفونت‌های بیمارستانی گردد (۳،۴) و عامل بیش از ۱۰٪ عفونت‌های بیمارستانی و ۷۰٪ مرگ و میرهای ناشی است (۵). پنومونی‌های ایجاد شده توسط اسینتوباکتربومانی می‌تواند به صورت اکتسابی از جامعه بوده و یا در بیمارستان به دلیل ارتباط بیمار با دستگاه‌های تهویه یا اشیاء خارجی مانند لوله‌گذاری در تراشه، تراکئوستومی و یا سابقه جراحی و بیماری‌های ریوی قبلی به وجود آید. طول مدت بستری بیماران مستعد در ICU و سهل‌انگاری در بهداشت احتمال کلونیزاسیون و عفونت ناشی از اسینتوباکتربومانی را افزایش می‌دهد (۱۱-۱۶).

در درمان عفونت‌های اسینتوباکتر بومانی از سفالوسپورین‌ها، آمینوگلیکوزیدها، داکسی‌سایکلین، فلورکوئینولون‌ها، کلیستین و کارباپن‌ها (به جزء ارتاپنم که کمترین فعالیت را علیه اسینتوباکتر بومانی دارد) استفاده می‌شود (۲). در طی ۲۰ سال اخیر جدایه‌های اسینتوباکتربومانی مقاوم به کارباپن، در سراسر جهان گزارش شده است. همچنان اکثر این جدایه‌ها دارای مقاومت چند دارویی (MDR) می‌باشند که درمان را با مشکل مواجه می‌نماید (۱،۶). مقاومت به کارباپن‌ها می‌تواند به وسیله یک و یا چند مکانیسم مختلف از جمله تولید آنزیم‌های هیدرولیز کننده کارباپن‌ها ایجاد شود (۲،۷).

در جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی، آنزیم‌های هیدرولیز کننده کارباپن‌ها شامل بتالاکتمامازهای کلاس A (KPC)، بتالاکتمامازهای کلاس B (متالوبتاکتمامازها) و بتالاکتمامازهای

استفاده شد (۱۴). تمام محیط‌های کشت ساخت شرکت F:5'TCTGGTTGACGGTTCAGC3' از پرایمرهای bla_{OXA-23} و R:5'AGTCTTCCAAAAATTG3' (۶۰۶ جفت باز) و تکثیر ژن F:5'ATGAAAAAATTATACTTCC3' از پرایمرهای bla_{OXA-24} و R:5'TTAAATGATTCCAAGATTTTC3' استفاده گردید (۱۷). جهت تایید جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی F:5'TAATGCTTGATCGGCCTG3' با پرایمرهای bla_{OXA-51} (۸۲۸ جفت باز) و R:5'TGGATTGCACTTCATCTGG3' (به طول ۳۵۳ جفت باز) استفاده گردید (۱۲).

تکثیر ژن‌های bla_{OXA-23} و bla_{OXA-24} با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (ABI آمریکا) با شرایط دمای واسرشت اولیه در ۹۴ °C به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل حرارتی شامل واسرشت در ۹۴ °C به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمر در ۴۵ °C به مدت ۱ دقیقه و تکثیر در ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه و در پایان تکثیر bla_{OXA-51} در ۷۲ °C به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. تکثیر ژن bla_{OXA-24} همانند ژن‌های bla_{OXA-23} و bla_{OXA-24} ولی در دمای اتصال پرایمر ۵۵ °C انجام شد.

الکتروفورز محصولات PCR توسط ژل آگارز ۱٪ حاوی DNA Grain viewer (پارس توس، ایران) انجام شد. سپس باندها به وسیله دستگاه ژل داک (ATP، ایران) عکس‌برداری شدند. برای کنترل منفی از میکروتیوب حاوی مواد واکنش بدون DNA الگو و برای صحت انجام آزمایش از سویه‌های کنترل مثبت اسینتوباکتر بومانی تعیین توالی شده حاوی ژن‌های bla_{OXA-51}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-23} استفاده شد.

آزمون آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS16 و آزمون کای اسکوئر انجام گرفت.

نتایج

در این مطالعه تعداد ۴۰ جدایه اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های تراشه بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه جدا شد که با توجه به ردیابی ژن bla_{OXA-51} از نظر مولکولی مورد تایید قرار گرفتند (شکل ۱). سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن نشان داد که جدایه‌ها بیشترین مقاومت

استفاده شد (۱۴). تمام محیط‌های کشت ساخت شرکت Merck-Darmstadt آلمان بود.

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی به روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) طبق پروتکل CLSI ۲۰۱۵ و با استفاده سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت لوله نیم مک فارلن (معادل $1/5 \times 10^8$ CFU/ml) و محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck، آلمان) جهت آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم/ سولفومتوکسازول، ایمیپن، مروپن، جنتامايسین، کلیستین، تایگی‌سیکلین، سفتریاکسون، سفتازیدیم، آمیکاسین، پیپراسیلین، پیپراسیلین/تازوبلاتام و آمپی‌سیلین/سولبلاکتام انجام شد (۱۵). جهت کنترل کیفی از سویه استاندارد اسینتوباکتر بومانی ATCC19606 استفاده گردید. کلیه دیسک‌های آنتی‌بیوتیک ساخت شرکت Mast انگلستان بود.

تعیین MIC ایمیپن

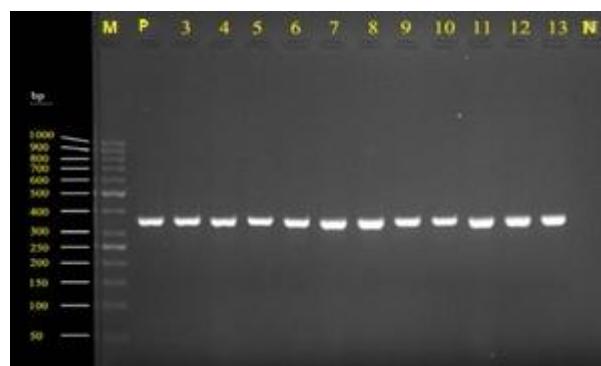
تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) ایمیپن به روش Etest و با استفاده از استریپ‌های حاوی غلظت‌های $32-0/002 \mu\text{g}/\text{ml}$ CLSI ۲۰۱۵ (Liofilchem، ایتالیا) بر اساس دستورالعمل ایمیپن انجام شد. جدایه‌های با $\text{MIC} \geq 8 \mu\text{g}/\text{ml}$ مقاوم و جدایه‌های با $\text{MIC} \leq 2 \mu\text{g}/\text{ml}$ حساس در نظر گرفته شدند (۱۵). جهت کنترل کیفی از سویه استاندارد پسودوموناس آثروزینوزا ATCC278531 استفاده شد.

استخراج DNA

پس از کشت شبانه جدایه‌های خالص اسینتوباکتر بومانی در محیط BHI، استخراج DNA به روش نمک اشباع DNA (Salting out) انجام گردید (۱۶). برای سنجش کیفیت استخراج شده از ژل آگارز ۷٪ و کمیت استخراج از اسپکتروفوتومتری در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر استفاده شد. تکثیر ژن‌های اگزاسیلینازی کارباپنماز به روش PCR واکنش PCR با حجم نهایی $1 \mu\text{l}$ ، شامل $10 \mu\text{l}$ از Master mix (Amplicon، دانمارک)، $1 \mu\text{l}$ آب قطره استریل، $2/5 \mu\text{l}$ پرایمر (پیشگام، ایران) با غلظت

(جدول ۱). تمام جدایه‌ها دارای $\text{MIC} \geq 32 \mu\text{g/ml}$ بوده و در نتیجه به ایمیپنem مقاوم بودند.

را به مروپنem و ایمیپنem (۱۰۰٪) داشتند. کلیه جدایه‌ها نسبت به کلیستین حساس بوده و بعد از آن کمترین مقاومت را به آمپیسیلین- سولباکتام و تایگی‌سایکلین (۱۰٪) داشتند.



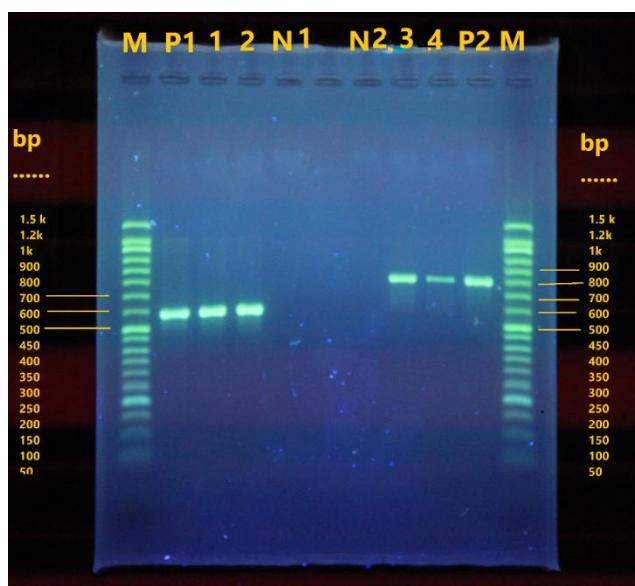
شکل ۱: بررسی تکثیر ژن $\text{bla}_{\text{OXA-51 Like}}$ با استفاده از آگارز ژل ۱ درصد الکتروفورز.

ستون M: 50 bp DNA Ladder مثبت ژن $\text{bla}_{\text{OXA-51 Like}}$. ستون P: کنترل منفی. قطعه محصول تکثیر به طول ۳۵۳ جفت باز بود.

جدول ۱: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی موردمطالعه به روش دیسک دیفیوژن

آنتی‌بیوتیک	حساس (%) تعداد	حساس (%) تعداد	نیمه حساس (%) تعداد	مقاطوم (%) تعداد
مروپنem	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۰ (۱۰۰)
ایمیپنem	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۰ (۱۰۰)
سفتریاکسون	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۰ (۱۰۰)
سفتازیدیم	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۰ (۱۰۰)
سفوتاکسیم	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۰ (۱۰۰)
سفپیم	۰ (۰)	۰ (۰)	۴ (۱۰)	۳۶ (۹۰)
تری متیپریم سولفامتوکسانول	۳ (۷/۵)	۳ (۷/۵)	۳ (۷/۵)	۳۴ (۸۵)
آمیکاسین	۹ (۲۲/۵)	۹ (۲۲/۵)	۲ (۵)	۲۹ (۷۲/۵)
جنتاماکسین	۶ (۱۵)	۶ (۱۵)	۱ (۲/۵)	۳۳ (۸۲/۵)
سیپروفلوکساسین	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۰ (۱۰۰)
پیپراسیلین تازوباکتام	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۰ (۱۰۰)
آمپی سیلین سولباکتام	۳۴ (۸۵)	۳۴ (۸۵)	۲ (۵)	۴ (۱۰)
تایگی سایکلین	۲۶ (۶۵)	۱۰ (۲۵)	۱۰ (۲۵)	۴ (۱۰)
کلیستین	۴۰ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)

در ۲۰٪ جدایه‌ها مشاهده شد (شکل ۲). ژن‌های اگزاسیلینازی $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ و $\text{bla}_{\text{OXA-24}}$ به ترتیب در ۰.۸۷/۵٪ و ۰.۲۵٪ جدایه‌ها و فراوانی این دو ژن به صورت همزمان



شکل ۲: بررسی تکثیر ژن‌های *bla*_{OXA-24} Like و *bla*_{OXA-23} Like با استفاده از آگارز ژل الکتروفورز ۱ درصد.

ستون M: 50 bp DNA Ladder، ستون P1: کنترل مثبت ژن *bla*_{OXA-23} Like، ستون های ۱ و ۲: جدایه‌های دارای ژن *bla*_{OXA-23} Like (۶۰۶ جفت باز)، ستون N1: کنترل منفی *bla*_{OXA-24} Like، ستون های ۳ و ۴: جدایه‌های دارای ژن *bla*_{OXA-24} Like (۸۲۸ جفت باز)، ستون P2: کنترل مثبت ژن *bla*_{OXA-24} Like.

بحث

۹۱/۵٪ و کوتی و همکاران مقاومت به مروپنام و سفتازیدیم (۲۵) و به ایمپینم ۹۸/۵٪ گزارش گردیده است (۲۶). در هر سه مطالعه و مطالعه حاضر تمامی جدایه‌ها به کلیستین حساس بوده (۲۲، ۲۵، ۲۶) و نتایج حاصل همخوانی دارد.

Etest در مطالعه حاضر، جدایه‌های مورد بررسی در روش نسبت به ایمپینم ۱۰۰٪ مقاومت نشان دادند. در مطالعات گودرزی و همکاران و شجاع و همکاران به ترتیب ۹۶/۸٪ و ۱۰۰٪ گزارش گردیده است (۲۲، ۲۵) که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه جیا و همکاران در چین این مقاومت ۸۱/۴٪ گزارش شد (۲۷) که کمتر از مطالعه حاضر می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که نتایج سنجش حساسیت نسبت به کارباپنیم‌ها به روش دیسک دیفیوژن با روش CLSI نیز توصیه شده است، مطابقت دارد و با توجه به اینکه روش‌های تعیین MIC زمان بر و پرهزینه می‌باشد، لذا می‌توان در مواردی که تعیین MIC مدنظر نباشد مورد استفاده قرار داد.

اسینتوباکتریومانی به طور عمده از نمونه‌های انسانی و محیط‌های بیمارستانی جدا می‌شود (۱۸). جداسازی این ارگانیسم از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه گزارش شده است (۳، ۱۹) اسینتوباکتر بومانی سومین عامل بیماری‌های عفونی در بخش مراقبت‌های ویژه است که مرگ و میر آن بین ۶۸-۲۶٪ متغیر می‌باشد (۲۰). این باکتری از بیماران مبتلا به پنومونی مرتبط با ونتیلاتور جدا می‌شود (۲۱، ۲۲). در بخش مراقبت‌های ویژه گزارش‌های متعدد اخیر از شیوع مقاومت بالای این باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم خبر می‌دهد (۲۳، ۲۴).

در مطالعه حاضر کلیه ۴۰ اسینتوباکتریومانی جدا شده از نمونه تراشه بیماران به آنتی‌بیوتیک‌های مروپنام، ایمپینم، سفتازیدیم، سفتریاکسون و سفوتابکسیم ۹۶/۱٪ مقاوم بودند. در مطالعات شجاع و همکاران در اهواز (سال ۲۰۱۳)، مقاومت به کارباپنیم‌ها و سفالوسپورین‌ها (۲۲)، گودرزی و همکاران مقاومت به سفتازیدیم، سفتریاکسون و مروپنام ۹۹٪ و ایمپینم

هیدرولیز کننده کارباپنم‌ها یا بیان پمپ‌های افلاکس سبب این مقاومت باشد (۷۸،۳۶). کم بودن تعداد نمونه محدودیت اصلی این مطالعه بود. با توجه به شیوع مقاومت کارباپنم‌ها در نمونه‌های مورد بررسی و همچنین عدم وجود گلد استانداری برای تشخیص فنوتیبی این نوع آنزیم‌ها، فقط از راه مولکولی می‌توان ژن‌های oxa type را ارزیابی نمود، لازم است مطالعات گسترده‌تری توسط تیم‌های کنترل عفونت بیمارستانی در این خصوص انجام گیرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی اخذ شده از نمونه تراشه به سفالوسپورین‌ها و کارباپنم‌ها مقاومت بسیار بالایی داشته، لذا بررسی منظم الگوی مقاومت آنتیبیوتیکی این باکتری در بیمارستان‌ها توصیه می‌گردد تا در صورت مقاومت، برای درمان از آنتیبیوتیک‌های دیگر از جمله تایگی‌سایکلین و oxa type کلیستین استفاده گردد. با توجه به فراوانی ژن‌های bla_{OXA-24} کلاس D آمبler، مطالعاتی در مورد شیوع ژن‌های دیگر کارباپنم‌ها پیشنهاد می‌گردد.

سباسگزاری

بدین‌وسیله از کارکنان آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی، سلامت و ایمنی غذا دانشکده بهداشت و پردازی بین‌الملل دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد در مساعدة و همکاری این تحقیق کمال تشكر را داریم. این مقاله استخراج شده از پایان‌نامه در مقطع کارشناسی ارشد پردازی بین‌الملل دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد می‌باشد.

مکانیسم اصلی مقاومت به کارباپنم‌ها در جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی تولید آنزیم‌های اگزاسیلیناز گروه D طبقه‌بندی آمبler می‌باشد (۲۸-۳۰). شیوع آنزیم‌های OXA در مناطق مختلف جهان متفاوت می‌باشد (۳۱-۳۳). در مطالعه حاضر شیوع ژن‌های bla_{OXA-23} و bla_{OXA-24} به ترتیب ۸۷/۵٪ و ۲۵٪ بود. شیوع ژن‌های bla_{OXA-23} و bla_{OXA-24} در مطالعه شجاع و همکاران به ترتیب ۸۵٪ و ۸/۷٪ (۲۲)، در مطالعه گودرزی و همکاران به ترتیب ۵۵/۷٪ و ۱/۴٪ (۲۵) و کوتی و همکاران به ترتیب ۴۰٪ و ۷٪ گزارش شده است (۲۶).

به‌طورکلی عدم همخوانی شیوع ژن bla_{OXA-24} در این مطالعه نسبت به مطالعات فوق ممکن است به دلیل محل، تعداد و یا تنوع نمونه‌ها باشد. همچنین مقاومت بالا به کارباپنم‌ها در بررسی کوتی و همکاران، عدم همخوانی در شیوع ژن‌های bla_{OXA-24} و bla_{OXA-23} می‌تواند به دلیل شیوع مکانیسم‌های دیگر مقاومت به کارباپنم‌ها باشد.

bla_{OXA-23} و همکاران و جیا و همکاران ژن bla_{OXA-23} به ترتیب در ۹۷/۲٪ و ۱۰۰٪ جدایه‌ها ردیابی شده است (۲۷،۳۴). این در حالی است که ۵۹٪ جدایه‌ها در مطالعه Kock و همکاران مولد ژن bla_{OXA-23} بوده اما تمام جدایه‌ها فاقد ژن bla_{OXA-24} بودند (۳۵). عدم همخوانی شیوع ژن‌های bla_{OXA-24} و bla_{OXA-23} در مطالعات خارج از ایران با مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل شرایط جغرافیایی متفاوت باشد. در مطالعه حاضر ۷/۵٪ از جدایه‌ها به کارباپنم‌ها مقاوم بوده ولی فاقد ژن‌های bla_{OXA-23} و bla_{OXA-24} بودند، احتمال می‌رود دلایل دیگری همچون کاهش نفوذپذیری غشاء، تغییر در پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین، تولید آنزیم‌های دیگر

References:

- 1- Wieczorek P, Sacha P, Hauschild T, Zórski M, Krawczyk M, Tryniszewska E. *Multidrug resistant Acinetobacter baumannii- the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics*. Folia Histochem Cytobiol 2008; 46(3): 257-56.

- 2- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen.* Clinic microbiology rev 2008; 21(3): 538-82.
- 3- Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. *Global challenge of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii.* Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(10): 3471-84.
- 4- Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter infection.* New England J Med 2008; 358(12): 1271-81.
- 5- Zhu L, Yan Z, Zhang Z, Zhou Q, Zhou J, Wakeland EK, et al. *Complete genome analysis of three Acinetobacter baumannii clinical isolates in China for insight into the diversification of drug resistance elements.* PLoS One 2013; 8(6): e66584.
- 6- Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, Chen WH, Yu CJ, Ho SW, et al. *Pandrug-resistant Acinetobacter baumannii causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan.* Emerging infectious diseases 2002; 8(8): 827-32.
- 7- Mahajan G, Sheemar S, Chopra S, Kaur J, Chowdhary D, Makhija S. *Carbapenem resistance and phenotypic detection of carbapenemases in clinical isolates of Acinetobacter baumannii.* Indian J Med Sci 2011; 65(1): 18-25.
- 8- Poirel L, Mansour W, Bouallegue O, Nordmann P. *Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii isolates from Tunisia producing the OXA-58-like carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-97.* Antimicrob Agents Chemother 2008; 52(5): 1613-7.
- 9- Poirel L, Marqué S, Héritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. *OXA-58, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems in Acinetobacter baumannii.* Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(1): 202-08.
- 10- Karmostaji A, Peerayeh SN, Salmanian AH. *Distribution of OXA-Type Class D β -Lactamase Genes Among Nosocomial Multi Drug Resistant Acinetobacter baumannii Isolated in Tehran Hospitals.* Jundishapur J Microbiology 2013; 6(5): e8219.
- 11- Merkier AK, Centrón D. *bla OXA-51-type β -lactamase genes are ubiquitous and vary within a strain in Acinetobacter baumannii.* Inter J antimicrobial agents 2006; 28(2): 110-13.
- 12- 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 Clinic microbiology 2006; 44(8): 2974-6.
- 13- Koneman EW. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology:* Lippincott-Raven Publishers; 1997.
- 14- Visca P, Seifert H, Towner KJ. *Acinetobacter infection—an emerging threat to human health.* IUBMB life 2011; 63(12): 1048-54.
- 15- Patel J, Cockerill F, Bradford P. *Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100-S25.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

- 16- Sambrook J, Russell David W. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Vol. 3: Cold spring harbor laboratory press; 1989.
- 17- Srinivasan VB, Rajamohan G, Pancholi P, Stevenson K, Tadesse D, Patchanee P, et al. *Genetic relatedness and molecular characterization of multidrug resistant Acinetobacter baumannii isolated in central Ohio, USA*. Annals Clinic microbiology and antimicrobials 2009; 8(1): 21.
- 18- Wieczorek P, Sacha P, Hauschild T, ZórAWSKI M, Krawczyk M, Tryniszewska E. *Multidrug resistant Acinetobacter baumannii—the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics*. Folia Histochem Cytobiol 2008; 46(3): 257-67.
- 19- Schuetz AN, Huard RC, Eshoo MW, Massire C, Della-Latta P, Wu F, et al. *Identification of a novel Acinetobacter baumannii clone in a US hospital outbreak by multilocus polymerase chain reaction/electrospray-ionization mass spectrometry*. Diagnostic microbiology and infectious disease 2012; 72(1): 9-14.
- 20- Nomanpour B, Ghodousi A, Babaei A, Abtahi H, Tabrizi M, Feizabadi M. *Rapid, cost-effective, sensitive and quantitative detection of Acinetobacter baumannii from pneumonia patients*. Iranian J microbiology 2011; 3(4): 162-9.
- 21- Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernández-Hinojosa E, Aldabó-Pallás T, Cayuela A, Marquez-Vácaro JA, et al. *Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings*. Intensive care Med 2005; 31(5): 649-55.
- 22- Shoja S, Moosavian M, Peymani A, Tabatabaiefar MA, Rostami S, Ebrahimi N. *Genotyping of carbapenem resistant Acinetobacter baumannii isolated from tracheal tube discharge of hospitalized patients in intensive care units, Ahvaz, Iran*. Iranian J microbiology 2013; 5(4): 315-22.
- 23- Prashanth K, Badrinath S. *In vitro susceptibility pattern of Acinetobacter species to commonly used cephalosporins, quinolones, and aminoglycosides*. Indian J Med microbiology 2004; 22(2): 97-103.
- 24- Jamulitrat S, Thongpiyapoom S, Suwalak N. *An outbreak of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii at Songklanagarind Hospital: the risk factors and patient prognosis*. J Med Assoc Thai 2007; 90(10): 2181-91.
- 25- Goudarzi H, Douraghi M, Ghalavand Z, Goudarzi M. *Assessment of antibiotic resistance pattern in Acinetobacter bumannii carrying bla oxa type genes isolated from hospitalized patients*. Novelty in Biomedicine 2013; 1(2): 54-61.
- 26- Kooti S, Motamedifar M, Sarvari J. *Antibiotic resistance profile and distribution of oxacillinase genes among clinical isolates of acinetobacter baumannii in shiraz teaching hospitals, 2012-2013*. Jundishapur J microbiology 2015; 8(8): e20215.
- 27- Jia W, Li C, Zhang H, Li G, Liu X, Wei J. *Prevalence of Genes of OXA-23 Carbapenemase and AdeABC Efflux Pump Associated with Multidrug Resistance of Acinetobacter baumannii Isolates in the ICU of a*

- Comprehensive Hospital of Northwestern China.* Inter J environmental research and public health 2015; 12(8): 10079-92.
- 28- Kempf M, Rolain JM. *Emergence of resistance to carbapenems in Acinetobacter baumannii in Europe: clinical impact and therapeutic options.* Inter J antimicrobial agents 2012; 39(2): 105-14.
- 29- D'Arezzo S, Principe L, Capone A, Petrosillo N, Petrucca A, Visca P. *Changing carbapenemase gene pattern in an epidemic multidrug-resistant Acinetobacter baumannii lineage causing multiple outbreaks in central Italy.* J Antimicrobial Chemotherapy 2011; 66(1): 54-61.
- 30- 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.
- 31- Yan ZQ, Shen DX, Cao JR, Chen R, Wei X, Liu LP, et al. *Susceptibility patterns and molecular epidemiology of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii strains from three military hospitals in China.* Inter J antimicrobial agents 2010; 35(3): 269-73.
- 32- Irfan S, Turton J, Mehraj J, Siddiqui S, Haider S, Zafar A, et al. *Molecular and epidemiological characterisation of clinical isolates of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii from public and private sector intensive care units in Karachi, Pakistan.* J Hospital Infection 2011; 78(2): 143-48.
- 33- Touati M, Diene SM, Racherache A, Dekhil M, Djahoudi A, Rolain JM. *Emergence of bla OXA-23 and bla OXA-58 carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolates from University Hospital of Annaba, Algeria.* Inter J antimicrobial agents 2012; 40(1): 89-91.
- 34- Hu Q, Hu Z, Li J, Tian B, Xu H, Li J. *Detection of OXA type carbapenemases and integrons among carbapenem resistant Acinetobactor baumannii in a Teaching Hospital in China.* J basic microbiology 2011; 51(5): 467-72.
- 35- Kock MM, Bellomo AN, Storm N, Ehlers MM. *Prevalence of carbapenem resistance genes in Acinetobacter baumannii isolated from clinical specimens obtained from an academic hospital in South Africa.* Southern African J Epidemiology and Infection 2013; 28(1): 28-32.
- 36- Kulah C, Mooij MJ, Comert F, Aktas E, Celebi G, Ozlu N, et al. *Characterisation of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii outbreak strains producing OXA-58 in Turkey.* Inter J antimicrobial agents 2010; 36(2): 114-18.

Survey of Antibiotic Resistance and Frequency of *bla*_{OXA-23} and *bla*_{OXA-24} Oxacillinase in *Acinetobacter baumannii* Isolated from Tracheal Tube Specimens of Patients Hospitalized in Intensive Care Units in Isfahan city

Mostafa Ghalebi (MSc)¹, Gilda Eslami (PhD)^{2,3}, Hengameh Zandi (PhD)^{2,4}, Armin Farhang (MSc)⁵, Mahmood Vakili (MD)⁶, Nasim Mohammadi (MSc)⁷, Amin Dehghan Banadkouki (MSc)⁸

¹ International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

² Research Center for Food Hygiene and Safety, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

³ Department of Parasitology and Mycology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

⁴ Department of Microbiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

⁵ Department of Parasitology and Mycology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

⁶ Department of Community Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

⁷ Department of Biology, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran.

⁸ Department of Microbiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

Received: 5 Dec 2016

Accepted: 19 Jan 2017

Abstract

Introduction: *Acinetobacter baumannii* is a non-fermentative gram-negative coccobacill that is prevalent in intensive care units. Carbapenem resistant *A.baumannii* isolates have been reported worldwide. Oxasillinase beta-lactamase enzymes are involved in bacterial resistance to carbapenem. This study aimed to determine the prevalence of *bla*_{OXA-23} and *bla*_{OXA-24} genes in *A. baumannii* isolated from tube discharge specimens of hospitalized patients in the intensive care units of the hospitals in Isfahan, Iran, in 2015.

Methods: A total of 40 isolates of *A. baumannii* were collected from the patients admitted to the intensive care units of the hospitals in Isfahan in 2015, they were identified by biochemical methods and detection of *bla*_{OXA-51} like gene. Antibiotic resistance pattern and minimum inhibitory concentration of imipenem were determined using disk diffusion and E-test methods respectively according to CLSI2015 protocol. *bla*_{OXA-23} and *bla*_{OXA-24} genes were detected by PCR method. Data were analyzed by SPSS (v.16) software and chi-square tests.

Results: All isolates were found resistant to ceftazidime, ceftriaxone, meropenem and imipenem and the lowest resistance were seen against colistin (0%) and tigecycline (10%), respectively. All isolates were resistant to imipenem using Etest method with MIC \geq 32 μ g / ml. *bla*_{OXA-23} and *bla*_{OXA-24} genes were detected in 87.5% and 25% of isolates, respectively.

Conclusion: Due to the results, treatment of *A. baumannii* isolates by carbapenems is ineffective and tigecycline or colistin could be used for treatment. Other studies for detection of other mechanisms for carbapenem resistance are recommended.

Keywords: *A. baumannii*, Intensive Care Units, Antimicrobial Resistance, Carbapenemase, Oxacillinase

This paper should be cited as:

Ghalebi M, Eslami G, Zandi H, Farhang A, Vakili M, Mohammadi N, Dehghan Banadkouki A. Survey of Antibiotic Resistance and Frequency of *bla*_{OXA-23} and *bla*_{OXA-24} Oxacillinase in *Acinetobacter baumannii* Isolated from Tracheal Tube Specimens of Patients Hospitalized in Intensive Care Units in Isfahan city. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 25(1): 1-10.

*Corresponding author: Tel: +983518241751, email: hengameh_zandi@yahoo.com