

مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره ۱ بهار ۱۳۸۸، صفحات ۹-۱

تشخیص ملکولی ژنهای بتالاکتاماز bla_{CTX} و bla_{TEM} در ایزوله‌های اسینتو باکتر، جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان‌های منتخب تهران

فرشته شاهچراغی^{۱*}، نیکو اکبری شه میرزادی^۱، مریم عباس علی پور بشاش^۱،
حسین جبّاری^۲، نور امیر مظفری^۳

(۱) بخش میکروبی شناسی، انستیتو پاستور ایران

(۲) مراکز تحقیقاتی ایدز ایران، بیماری‌های گوارش و کبد و محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران

(۳) گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

، بخش میکروبی شناسی انستیتو پاستور ایران

shahcheraghifreshteh@yahoo.com

همراه: ۰۹۱۲۲۹۷۲۲۲۲

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۵/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۰/۲۸

چکیده:

زمینه و اهداف: شیوع باکتری‌های مولد بتالاکتامازهای طیف گسترده (ESBL) در عفونت‌های بیمارستانی، از اهمیت ویژه برخوردار است. این مطالعه با هدف تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های اسینتو باکتر نسبت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتاماز و تحقیق پیرامون وجود ژن‌های بتالاکتاماز bla_{CTX} و bla_{TEM} در ایزوله‌های جدا شده در بیمارستان‌های منتخب تهران صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه مقطعی ۹۵ ایزوله اسینتو باکتر از نمونه بیماران بیمارستان‌های منتخب تهران در سال ۱۳۸۷ جمع آوری شد. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی با روش‌های انتشار از دیسک (disk diffusion) و حداقل غلظت بازدارنده سفتازیدیم به روش Microbroth Dilution بر اساس دستورالعمل (CLSI) Clinical and Laboratory Standards Institute تعیین شد. تولید ESBL با تست فنوتیپی تاییدی (Phenotypic Confirmatory Tests) تعیین گردید. ژن‌های bla_{CTX} و bla_{TEM} در ایزوله‌ها با روش Multiplex PCR شناسایی شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون T-test استفاده شد.

یافته‌ها: بیشترین و کمترین مقاومت در بین ایزوله‌ها به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفکسیم (۹۵٪ ایزوله، ۱۰۰٪) و کلیستین (۴٪ ایزوله، ۴/۲٪) مشاهده شد. حداقل غلظت بازدارنده نسبت به سفتازیدیم در ۷۹ (83/1٪) ایزوله $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ بود و ۱۸ (۱۸/۹٪) ایزوله مولد ESBL بودند. ژن‌های bla_{TEM} و bla_{CTX} به ترتیب در ۱۱ (۱۲/۸٪) و ۱ (۱/۲٪) ایزوله یافت شد.

نتیجه گیری: حداقل غلظت بازدارنده ایزوله‌ها در مقابل سفتازیدیم بالا است و حضور ژن bla_{TEM} در آنها بسیار قابل توجه می‌باشد. با توجه به اینکه در مطالعه‌ی حاضر کمتر از یک پنجم ایزوله‌ها مولد ESBL هستند، لذا علاوه بر بتالاکتامازها، مکانیزم‌هایی از قبیل پمپ‌های تراوشی و پورین‌ها از علل دیگر مقاومت در این باکتری‌ها می‌باشد. از آنجاییکه عوامل مقاومت بر روی عناصر ژنتیکی متحرک قرار دارند، شناسایی سریع و ردیابی این سویه‌ها می‌تواند نقش مهمی در جلوگیری از گسترش آنها داشته باشد.

کلید واژه‌ها: اسینتو باکتر، مقاومت آنتی بیوتیکی، ESBL، bla_{CTX} ، bla_{TEM}

مقدمه:

*bla*_{CTX} و *bla*_{TEM} رمز کننده این دسته از آنزیم‌های وسیع الطیف هستند. البته *bla*_{TEM-1} و *bla*_{TEM-2} و *bla*_{TEM-13} به‌طور استثناء طیف محدود (Narrow spectrum) دارند (۱۰، ۱۱). گونه‌های اسیتوباکتر رفتار مشابهی در رابطه با مقاومت آنتی‌بیوتیکی از خود نشان نمی‌دهند. کمپلکس اسیتوباکتر بومانی که از *A. baumannii* و *A. calcoaceticus* تشکیل شده است از لحاظ ژنتیکی به هم نزدیک می‌باشند. به‌طوری‌که در جنس اسیتوباکتر، این کمپلکس بیشترین عامل ایجاد عفونت‌های ناشی از این جنس است. در ضمن این کمپلکس بیشترین مقاومت دارویی چند گانه (Multiple drug resistance = MDR) را دارد (۱۲).

مشکلات درمانی ناشی از این باکتری و امکان انتقال بین موجودات زنده و غیر زنده و همچنین ماندگاری طولانی مدت در محیط بیمارستان باعث افزایش ظهور این باکتری در محیط‌های بیمارستانی و عفونت روزافزون ناشی آن شده است (۱۳). یکی از مواقعی که عفونت ناشی از اسیتوباکتر ایجاد مشکل می‌کند جنگ و وقوع بلاای طبیعی است. در جنگ آمریکا با عراق و افغانستان و همچنین جنگ ویتنام این عفونت‌ها سربازان را دچار مشکل کرد (۱۴). اولین سابقه حضور اسیتوباکتر در جنگ، به جنگ کره بر می‌گردد (در آن دوره *Achromobacter* نامیده می‌شد) که از کشت خون مجروحان جنگ جدا شد. در سال ۱۹۷۲ Tong بیشترین عفونت اسیتوباکتر در جنگ را گزارش کرد، که در آن ۳۰ نفر دریانورد جنگ ویتنام دارای ۶۳ زخم با عفونت شدید ناشی از اسیتو باکتر بودند (۱۵). ژن‌های مقاومت بتالاکتامازها در این باکتری معمولاً بر روی عناصر ژنتیکی متحرک قرار دارند و در نتیجه به راحتی بین سویه‌ها انتقال می‌یابند. لذا، شناسایی سریع ردیابی سویه‌های مولد این آنزیم‌ها می‌تواند گامی مهم در درمان عفونت‌های ناشی از آنها و جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم بشمار رود. بنابراین، هدف از انجام این مطالعه تعیین مقاومت و حساسیت ایزوله‌های اسیتوباکتر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از جمله سفالوسپورین‌های نسل سوم، تعیین MIC سفنازیدیم و تحقیق پیرامون وجود ژن‌های *bla*_{CTX} و *bla*_{TEM} بود.

مواد و روش‌ها:

در فاصله ماه‌های فروردین تا بهمن سال ۱۳۸۷ تعداد ۹۵ ایزوله مربوط به نمونه ترشحات تنفسی، ادرار، زخم و خون بیماران

اسیتوباکتر، کوکوباسیل گرم منفی است که از بسیاری از منابع انسانی و محیطی جدا می‌شود (۱). این باکتری به پاتوژن مناطق گرمسیری و مرطوب معروف بوده است. شیوع عفونت‌های ناشی از آن در فصل تابستان بیشتر از فصول دیگر می‌باشد (۲، ۳). طی دهه گذشته شیوع عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این باکتری در حال افزایش بوده است. این موضوع به‌ویژه در بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه، سوختگی و جراحی اهمیت بیشتری دارد. اولین بار در سال ۱۹۹۱، گزارش مقاومت آنتی‌بیوتیکی اسیتوباکتر به کرباپنم‌ها در ایالات متحده، موجب نگرانی همگان شد (۴).

با وجود اینکه این باکتری معمولاً از ویروانس پایینی برخوردار است، اما از طریق تجهیزات مرتبط با دستگاه تنفسی و کاتترهای آلوده موجب طیف وسیعی از عفونت‌ها می‌گردد (۱). اسیتوباکتر تا مدتها می‌تواند در محیط بیمارستان باقی مانده و بین بیماران انتقال یابد (۵). مشکل عمده در عفونت‌های ناشی از آن مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتاماز است. همانطور که نتایج تحقیقات نشان می‌دهد مقاومت نسبت به کرباپنم‌ها که از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند روز به روز در حال افزایش است. به عنوان مثال، مرکز مدیریت بیماری‌های آمریکا (CDC) اعلام نموده میزان مقاومت ۹٪ در بین نمونه‌های جدا شده در سال ۱۹۹۵ افزایش چشمگیر به میزان ۳۱٪ پیدا کرده که در سال ۲۰۰۴ به ۴۰٪ رسیده است (۸-۶). مکانیسم‌های مقاومت در گونه‌های مختلف اسیتوباکتر به صور مختلفی بروز می‌کنند. این مکانیسم‌ها شامل کانال‌های دیواره سلولی (پورین‌ها)، سیستم‌های تراوشی (efflux pumps) و ترشح بتالاکتامازها می‌باشند (۹). یکی از این مکانیسم‌ها تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز است. این آنزیم‌ها از طریق هیدرولیز هسته مرکزی در آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتاماز باعث غیر فعال شدن آنها می‌شوند. بتالاکتامازها انواع مختلفی دارند که از آن جمله می‌توان به آنزیم‌های نوع SHV، PER، CTX و TEM اشاره نمود. ژن‌های کد کننده این آنزیم‌ها معمولاً جزو ژن‌هایی هستند که بر روی پلاسמיד قرار گرفته‌اند. با مصرف گسترده و روز افزون آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله سفالوسپورین‌ها، دسته دیگری از بتالاکتامازها بوجود آمدند که در مقایسه با بتالاکتامازهای اولیه طیف فعالیت گسترده‌تری داشتند (ESBLs). این آنزیم‌ها قادراند آنتی‌بیوتیک‌های گروه پنی‌سیلین، سفالوسپورین‌ها و نیز آرتزئونام را هیدرولیز نمایند. ژن‌های

استفاده شد. جهت کنترل روش‌های آنتی-بیوگرام و MIC از سویه *P. aeruginosa* ATCC 27853 استفاده شد.

DNA: و انجام استخراج PCR:

برای انجام PCR و شناسایی ژن‌های *bla*_{CTX} و *bla*_{TEM} ایزوله‌هایی با MIC $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ انتخاب شدند. به منظور استخراج DNA ایزوله‌ها، سوسپانسیون غلیظی از آنها در آب مقطر حاوی RNase (20 $\mu\text{g/ml}$) تهیه شد. سپس DNAی هر یک از ایزوله‌ها به روش جوشانیدن (boiling) استخراج گردید (۲۱).

تست PCR برای شناسایی ژن‌های بتالاکتاماز *bla*_{CTX} (550bp) و *bla*_{TEM} (800bp) تحت شرایط مندرج در جدول ۱ انجام شد (۲۲).

مشخصات پرایمرهای مورد استفاده، به شرح جدول ۲ می‌باشد. لازم به ذکر است که کلبسیلا پنومونیه ۷۸۸۱ حاوی ژن‌های CTX و TEM (اهدائی پروفوسور Patrice Nordmann از کشور فرانسه) به عنوان سویه استاندارد استفاده شد. همچنین ژل آگاروز ۱٪ برای الکتروفورز محصولات PCR و نیز مارکر 100bp Ladder Fermentase (محصول لیتوانی)، مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیز آماری به کمک نرم افزار SPSS و رابطه‌ی بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های *bla*_{CTX} و *bla*_{TEM} با آزمون آماری T-test بررسی گردید.

بستری و سرپایی بیمارستان‌های شریعتی، بقیه الله، امام خمینی، مصطفی خمینی تهران جمع آوری گردید. به منظور حصول اطمینان از صحت انتخاب کلونی‌ها، تست‌های بیوشیمیایی (اکسیداز، کاتالاز، OF، OF بی‌هوازی، TSI، اندول (SIM)، حرکت (SIM)، سیمون سیترات، MR، VP، مک کانکی، لاکتوز) انجام شد. به این ترتیب، ۹۵ ایزوله اسیتو باکتر شناسایی و تأیید شدند (۱۶). سپس ایزوله‌ها در محیط حاوی گلیسرین ۱۵-۱۸٪ در -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تعیین حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی به وسیله روش دیسک دیفیوژن (Baur-Kirby) صورت گرفت (۱۷). دیسک‌ها محصول شرکت MAST (کشور انگلستان) و به شرح زیر بودند: سفوتاکسیم (۳۰ μg)، پیراسیلین (۱۰۰ μg)، پیراسیلین / تازوباکتام (۱۱۰ μg)، آمیکاسین (۳۰ μg)، سفنازیدیم (۳۰ μg)، ایمی پنم (۱۰ μg)، سپیروفلوکساسین (۵ μg) و سفتریاکسون (۳۰ μg) سفکسیم (۵ μg)، از ترونام (۳۰ μg)، سفپیم (۳۰ μg) و کلیستین (۱۰ μg). تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) سفنازیدیم به روش Microbroth dilution و مطابق دستورالعمل Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) انجام گردید (۱۸).

آزمایش تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده (ESBLs): برای این منظور از تست فنوتیپی تاییدی (Phenotypic Confirmatory Tests) استفاده شد. دیسک‌های مورد آزمایش شامل سفنازیدیم/کلاوولانیک اسید ($\frac{CAZ: 30\mu g}{CA: 10\mu g}$)،

سفوتاکسیم/کلاوولانیک اسید ($\frac{CAZ: 30\mu g}{CA: 10\mu g}$)، سفوتاکسیم و سفنازیدیم بود (محصول شرکت Mast). بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تولید ESBLs از طریق افزایش قطر هاله به اندازه ۵ میلی‌متر یا بیشتر در اطراف دیسک سفنازیدیم-کلاوونیک اسید و یا سفوتاکسیم-کلاوولانیک اسید مشخص گشت (۱۹، ۲۰).

تعیین حداقل غلظت بازدارنده آنتی‌بیوتیک (Minimum Inhibitory Concentration):

ایزوله‌هایی برای تعیین MIC سفنازیدیم انتخاب شدند که قطر ناحیه عدم رشد در آنها حداکثر تا اندازه ۲۰ میلی‌متر بود. برای تعیین MIC ایزوله‌ها از روش Micro-broth dilution

جدول ۱: شرایط انجام PCR

No.	Step	Factor	Temp. (°C)	Time
		Gene	CTX/ TEM	CTX/ TEM
1	Initial denaturation		94/ 94	3/ 3 min
2	Denaturation		94/ 94	30/ 30 s
3	Annealing		63/ 45	1/ 1 min
4	Extension		72/ 72	1/ 1 min
5	Final extension		72/ 72	10/ 10 min
6	Cycle number		35	

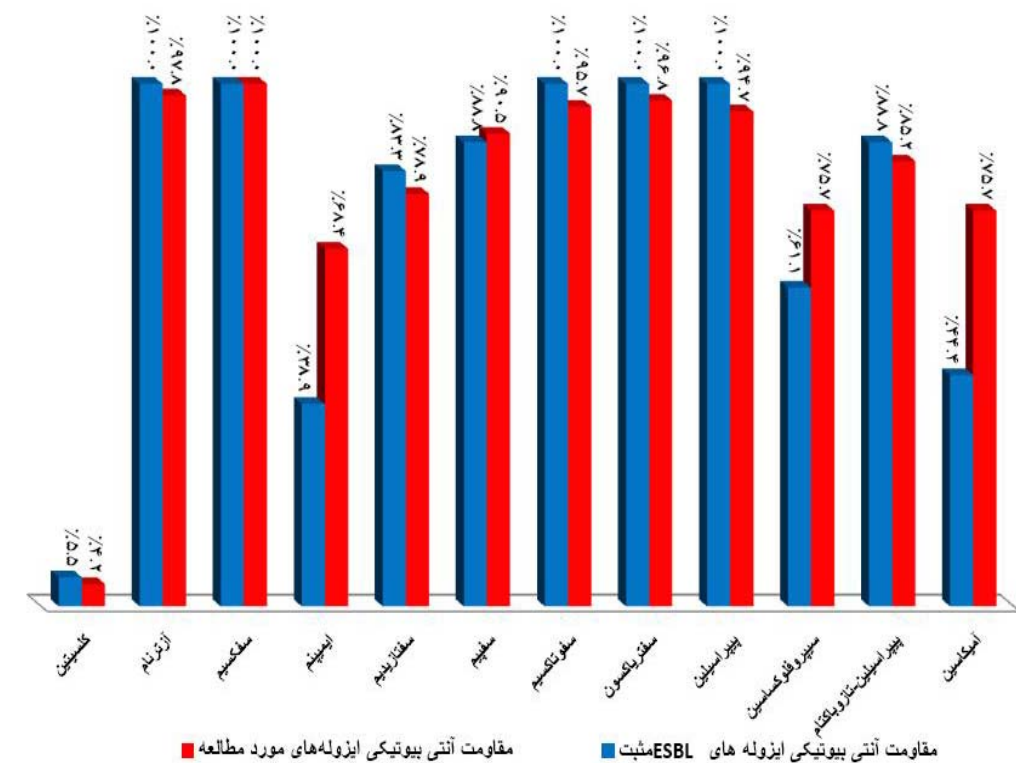
جدول ۲: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در PCR

نام ژن شناسایی شده	توالی نوکلئوتیدی	مشخصات
		نام پرایمر
CTX-A	5'-CGCTTTGCGATGTGCAG-3'	<i>bla</i> _{CTX}
CTX-B	5'-ACCGCGATATCGTTGGT-3'	<i>bla</i> _{CTX}
TEM-A	5'-GAGTATTCAACATTTCCGTGTC-3'	<i>bla</i> _{TEM}
TEM-B	5'-TAATCAGTGAGGCACCTATCTC-3'	<i>bla</i> _{TEM}

یافته ها:

میزان مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها به شرح ذیل بود: آمیکاسین در ۷۲ ایزوله (۷۵/۷٪)، پیراسیلین- تازوباکتام در ۸۱ ایزوله (۸۵/۲٪)، سیپروفلوکساسین در ۷۲ ایزوله (۷۵/۷٪)، پیراسیلین در ۹۰ ایزوله (۹۴/۷٪)، سفتریاکسون در ۹۲ ایزوله (۹۶/۸٪)، سفوتاکسیم در ۹۱ ایزوله (۹۵/۷٪)، سفپیم در ۸۶ ایزوله (۹۰/۵٪)، ایمینم در ۶۵ ایزوله (۶۸/۴٪)، و آزترنام در ۹۲ ایزوله (۹۶/۸٪). (نمودار ۱)

از ۹۵ ایزوله اسیتوباکتر جمع آوری و تایید شده به روش های بیوشیمیایی، ۴۳ (۴۵/۳٪) ایزوله مربوط به نمونه های تنفس (خلط و تراشه)، ۴ (۴/۲٪) ایزوله مربوط به زخم، ۱۱ (۱۱/۶٪) ایزوله مربوط به ادرار، ۳۷ (۳۸/۹٪) ایزوله مربوط به خون بود. بررسی میزان مقاومت ایزوله ها نسبت به آنتی بیوتیک های مورد مطالعه نشان داد که کمترین و بیشترین میزان مقاومت به ترتیب مربوط به کلیستین (۴ ایزوله ۴/۲٪) و سفکسیم (۹۵ ایزوله ۱۰۰٪) بود. مقاومت به سفنازیدیم نیز در ۷۵ (۷۸/۹٪) ایزوله مشاهده شد.

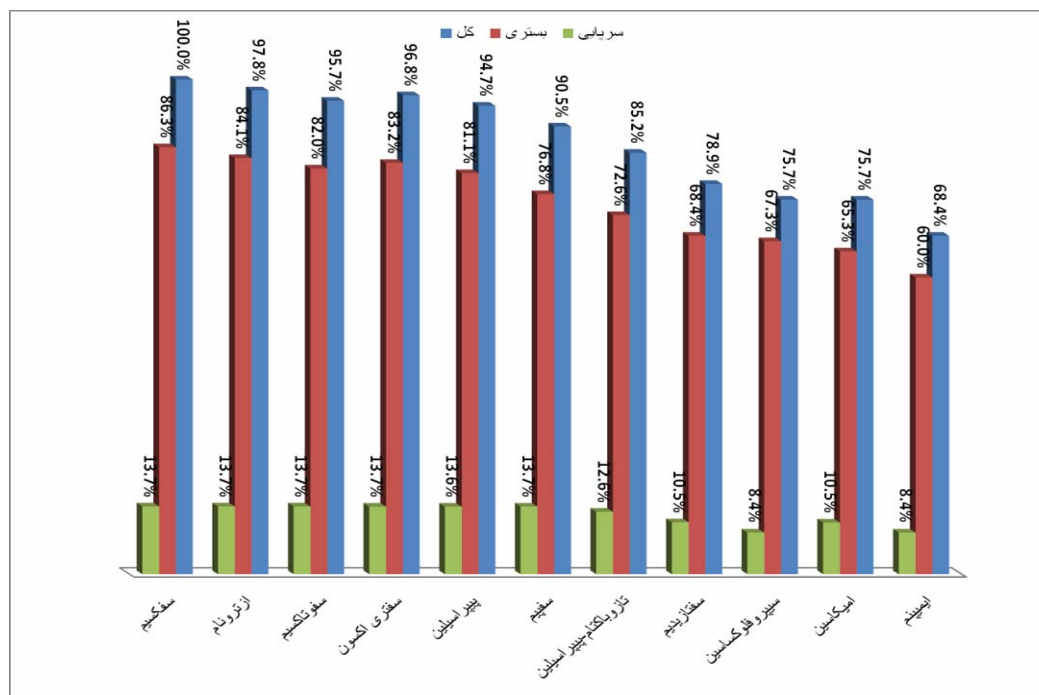


نمودار ۱: درصد مقاومت آنتی بیوتیکی کلیه ایزوله‌ها و ایزوله‌های ESBL مثبت

از کل ایزوله‌های مقاوم به ایمیپنم (n=۶۵)، بیشترین ایزوله (n=۳۷ یا ۵۶/۹٪) از خون جدا شده بود. بیشترین تعداد ایزوله مورد مطالعه در این گزارش از بیمارستان شریعی جدا شده بود و بیشترین و کمترین میزان مقاومت در ایزوله‌های این بیمارستان نیز همانند کل ایزوله‌های مورد بررسی به ترتیب متعلق به سفکسیم ۹۵٪ (۱۰۰٪) و کلیستین ۴٪ (۰/۴٪) بود. همانطور که در نمودار ۲ مشخص است، میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌های بیماران بستری بیشتر از بیماران سرپایی است.

جهت انجام PCR ژن‌های *bla*_{CTX} و *bla*_{TEM} از ۸۶ ایزوله‌ای استفاده شد که $MIC_{caz} \geq 16 \mu\text{g/ml}$ داشتند. از بین تعداد ۱۲/۸٪ (۱۱ ایزوله) دارای ژن *bla*_{TEM}، ۱/۲٪ (۱ ایزوله) دارای ژن *bla*_{CTX} بودند. بین مقاومت به سفوتاکسیم و فراوانی ژن *bla*_{TEM} رابطه معنی دار (P= 0.042) وجود داشت.

از مجموع ایزوله‌های مورد مطالعه ۸۴ ایزوله (۸۸/۴٪) با روش انتشار در آگار نسبت به سفتازیدیم غیرحساس (مقاوم وحد واسط) بودند. از این میان ۷۹ ایزوله (۸۳/۲٪) $MIC \geq 64 \mu\text{g/ml}$ به این آنتی‌بیوتیک نشان دادند. از این تعداد ۵ (۵/۱٪) ایزوله تنفسی و ۳ (۳/۸٪) ایزوله از عفونت‌های زخم، ۱۱ (۱۳/۹٪) ایزوله از ادرار و ۶۰ (۷۵/۹٪) ایزوله از خون جدا شده بود. همچنین ۱۸ (۱۸/۹٪) ایزوله به روش PCT مولد ESBL بودند. میزان مقاومت این ایزوله‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به قرار ذیل بود: آمیکاسین: ۸ (۴۴/۴٪)، پیراسیلین-تازوباکتام: ۱۶ (۸۸/۸٪)، سیپروفلوکساسین: ۱۱ (۶۱/۱٪)، پیراسیلین: ۱۸ (۱۰۰٪)، سفتراکسون: ۱۸ (۱۰۰٪)، سفوتاکسیم: ۱۸ (۱۰۰٪)، سفپییم: ۱۶ (۸۸/۸٪)، سفتازیدیم: ۱۵ (۸۳/۳٪)، ایمیپنم: ۷ (۳۸/۹٪)، سفکسیم: ۱۸ (۱۰۰٪)، کلیستین: ۱۸ (۵/۵٪) و آزترنام: ۱۸ (۱۰۰٪).



نمودار ۲: درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌های مربوط به بیماران بستری و سرپایی

بحث:

اسینتوباکتر از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌رود. نتایج نشان داد سویه‌های اسینتوباکتر دارای مقاومت بسیار بالایی نسبت به اکثر آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه و همچنین MIC بسیار بالایی نسبت به سفنازیدیم دارند. نتیجه حاصل از مقایسه حساسیت آنتی بیوتیکی پپرا سیلین به تنهایی و همراه با تازوباکتام تفاوت چندانی نشان نداد (مقاومت از ۹۴/۷ درصد به ۸۵/۲ درصد رسید). این تفاوت جزئی نشان می‌دهد که آنتی بیوتیک پپرا سیلین- تازوباکتام هم داروی مناسبی برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری نمی‌باشد.

در حال حاضر از ایمی پنم برای سویه‌هایی که به اکثر آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام، از جمله سفالوسپورین‌های نسل سوم، مقاوم بودند، استفاده می‌شود. اما، نتایج مطالعات دیگر (۲۳) و نیز نتایج حاصل از مطالعه حاضر بیانگر مقاومت ۶۸/۴ درصد نسبت به ایمی پنم است. در این مطالعه بیشترین تعداد (۵۵/۳ درصد) ایزوله‌های مقاوم به ایمی پنم از خون جدا شده بود.

به علت افراط در مصرف سفالوسپورین‌های نسل سوم و عدم رعایت اصول بهداشتی در سطح جامعه، همانطور که در نتایج این مطالعه مشخص است، مقاومت قابل ملاحظه‌ای در این نسل از سفالوسپورین‌ها به وجود آمده است. مقاومت ۹۶/۸ درصد در

سفتریاکسون، ۹۵/۷ درصد در سفتواکسیم، ۷۸/۹ درصد در سفنازیدیم و در نهایت مقاومت ۱۰۰ درصد در سفکسیم نشان می‌دهد که سفالوسپورین‌های نسل سوم داروی مناسبی برای درمان این نوع عفونت‌ها نمی‌باشند. یکی از راهکارهای مبارزه با گسترش مقاومت در این نوع عفونت‌ها، در صورت مشاهده مقاومت در سویه عامل عفونت به یکی از آنتی بیوتیک‌های این گروه از سفالوسپورین‌ها، می‌تواند عدم تجویز مجدد سفالوسپورین‌های نسل سوم باشد. مقایسه نشان داد میزان مقاومت به طور چشمگیری در کلیستین پایین تر از دیگر آنتی بیوتیک‌ها است. بدین ترتیب، کلیستین برای درمان عفونت‌های ناشی از اسینتوباکتر بسیار مناسب به نظر می‌رسد. دلیل احتمالی پایین بودن مقاومت به این آنتی بیوتیک، تجویز کم آن در دوره اخیر بوده است.

نظر به اینکه در این مطالعه بیشترین تعداد نمونه از خلط و تراشه جدا شده است، لذا به نظر می‌رسد بیشترین قسمت درگیر در عفونت‌های ناشی از اسینتوباکتر، دستگاه تنفسی باشد. بنا بر این، گند زدایی و سترون‌سازی تجهیزات و دستگاه‌های تنفسی مثل کاتترهای تنفسی یکی از راه‌های جلوگیری از انتشار این عفونت می‌باشد. گزارشات متعددی از سراسر دنیا بروز عفونت‌های حاد و یا کلونیزاسیون افراد به وسیله اسینتوباکترهای مولد ESBL را

با ۶۸/۴ درصد مقاومت در مطالعه ما، اختلاف قابل ملاحظه ای وجود ندارد. طی تحقیقی که در سال ۱۳۸۳ در دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام شد، مقاومت نسبت به آمیکاسین ۹۵/۵ درصد تعیین شد (۲۶). در حالیکه در مطالعه حاضر آمیکاسین با ۷۵/۷ درصد مقاومت بعد از کلیستین و ایمپنم کمترین مقاومت را نسبت به اسیتوباکتر دارد. به نظر می‌رسد که این کاهش مقاومت به دلیل مصرف محدودتر این آنتی بیوتیک در بیمارستان‌ها باشد.

در مطالعه حاضر، مقاومت در سویه‌های مولد ESBL نیز به صورت جداگانه بررسی گردید. میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در نمونه‌های ESBL مثبت بیشتر شده است، البته به استثناء سه آنتی بیوتیک ایمپنم، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین. این سه آنتی بیوتیک به ترتیب متعلق به گروه‌های کرباپنم‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها می‌باشند که مکانیسم‌های دیگری در ایجاد مقاومت به آنها دخیل هستند. این افزایش مقاومت در ایزوله‌های مولد ESBL می‌تواند بیانگر دخیل بودن آنزیم‌های ESBL در ایجاد مقاومت باشد.

در مطالعه Hujer و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی نمونه‌هایی که از بیمارستانی در آمریکا بر روی سربازان عراقی و افغانستانی انجام شده بود ۴۰ درصد از نمونه‌ها حاوی ژن *bla*_{TEM} بودند. میزان ایزوله‌های TEM مثبت در این مطالعه پایین‌تر (۱۲/۸ درصد) بود (۲۷).

در مطالعه‌ی دیگری که در سال ۲۰۰۹ توسط JIN Hui و همکاران در چین انجام شد، میزان نمونه‌های TEM مثبت در بین ایزوله‌های مقاوم ۸۱/۵ درصد گزارش شد که در مقایسه با مطالعه ما بسیار بالاتر است (۲۸).

بررسی Giuseppe Celenza و همکارانش در آمریکای جنوبی در سال ۲۰۰۶ نشان داد، میزان TEM مثبت و CTX مثبت به ترتیب ۲۶/۱ و ۳۰/۴ درصد بوده است. همچنین در بررسی دیگری که در سال ۲۰۰۶ در چین انجام شد تعداد نمونه‌های TEM مثبت ۲۶/۱ درصد گزارش شد. در حالیکه در مطالعه ما این مقادیر به ترتیب ۱۲/۸ و ۱/۲ درصد است (۲۷، ۲۶).

نتیجه گیری:

با توجه به اینکه اکثریت ایزوله‌های مورد مطالعه مقاوم به بتالاکتام‌ها می‌باشند برای درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از

تایید می‌کنند (۲۴ و ۲۵). طی پژوهشی که در سال ۲۰۰۷ در هندوستان انجام شده است ۲۸ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه ESBL مثبت بوده است در حالی که این میزان در مطالعه حاضر ۱۸/۹ درصد است که به این ترتیب نسبت به هندوستان ۹/۱ درصد کمتر است (۵). با توجه به اینکه ایزوله‌های تولید کننده بتالاکتاماز درصد پایین تری را در مقایسه با ایزوله‌های مقاوم نسبت به بتالاکتام‌ها دارند، بنا براین، به نظر می‌رسد که علاوه بر تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وجود Efflux pump و کانال‌های دیواره سلولی (پورین‌ها) نیز در ایجاد مقاومت دخیل باشند. همچنین انجام تست‌های فنوتیپی به تنهایی قادر به تعیین سویه‌های مولد انواع آنزیم‌های ESBL نمی‌باشد. لذا، بایستی آزمایشات مولکولی نیز بر روی این سویه‌ها، جهت بررسی وجود آنزیم‌های ESBL، انجام شود.

مقاومت آنتی بیوتیکی در بیماران بستری و سرپایی هم مقایسه شد. میزان مقاومت در بیماران بستری بیشتر بوده است. مقاومت بالا در بیماران بستری به دلیل احتمال انتقال ژن‌های مقاومت از طریق عناصر ژنتیکی متحرک در بین ایزوله‌ها و همچنین احتمال انتشار کلونال ایزوله‌های مقاوم در بین بیماران بستری است. همچنین مقایسه در بیماران سرپایی و بستری نشان داد بیشترین و کمترین مقاومت به ترتیب مربوط به سفپیم و سیپروفلوکساسین است. این موضوع بیانگر احتمال مصرف بیشتر آنتی بیوتیک سفپیم در بیماران سرپایی است.

ایزوله‌های مولد ESBL معمولاً نسبت به آزترونام حساس می‌باشند. با این وجود همانطور که از نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی بر می‌آید میزان مقاومت به آزترونام در نمونه‌های مولد ESBL، ۱۰۰ درصد گزارش شد. میزان مقاومت بالا نسبت به این آنتی بیوتیک، همانطور که قبلاً هم اشاره شد، بیانگر دو موضوع است: اول اینکه روش PCT روش مناسبی برای شناسایی تمامی ایزوله‌های مولد ESBL در این باکتری نمی‌باشد، دوم اینکه مکانیسم‌های دیگری از جمله Efflux pump و پورین‌ها (منافذ غشا) در ایجاد این مقاومت دخیل می‌باشند. یکی از راه‌های اصلاح روش PCT، استفاده همزمان از سه دیسک است و دیگری استفاده از روش‌های مولکولی برای شناسایی ژن‌های ESBL می‌باشد.

در مطالعه دیگری (۲۰۰۲-۲۰۰۴) مقاومت اسیتوباکتر جدا شده از سربازان جنگ عراق و افغانستان بررسی گردید (۱۴). ۶۵ درصد از نمونه‌ها نسبت به ایمپنم مقاوم بودند که در مقایسه

شود. همچنین شناسایی سریع و رد یابی سویه‌های مولد این آنزیم‌ها می‌تواند گامی مهم در درمان عفونت‌های ناشی از آنها و جلوگیری از گسترش آنها باشد.

تقدیر و تشکر:

از زحمات خانم وجیهه نیک بین و خانم فهیمه شوریج که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده اند تشکر می‌شود. همچنین تشکر ویژه خود را از زحمات مسئولین و کارکنان آزمایشگاه‌های بیمارستان‌های شریعتی، بقیه الله، امام خمینی، و مصطفی خمینی تهران اعلام می‌داریم.

این باکتری استفاده از بتالاکتام‌ها توصیه نمی‌شود. حضور ژن‌های *bla*_{CTX} و *bla*_{TEM} در این ایزوله‌ها بسیار قابل توجه است. همانند دیگر کشورها، سویه‌های مولد ESBL اسیتوباکتر در ایران نیز در حال گسترش است. ژن‌های مقاومت بر روی عناصر ژنتیکی قابل انتقال قرار دارند که می‌توانند از یک سویه مقاوم به دیگر سویه‌ها انتقال یابند و مقاومت را در بیمارستان یا دیگر محیط‌های درمانی منتشر نمایند. لذا، مدیریت صحیح مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و اتخاذ تدابیر لازم در رعایت استانداردهای مراقبت‌های بهداشتی می‌تواند باعث جلوگیری از گسترش مقاومت به دیگر بیماران بستری و یا وسایل بیمارستانی

فهرست مراجع:

- Babay H, Kambal A, Al-Anazy A, Saidu A, Aziz Sh. *Acinetobacter* Blood Stream Infection in a Teaching Hospital - Riyadh, Saudi Arabia. *Kuwait Med J* 2003; **35** (3): 196-2011
- Smith PW. Seasonal incidence of *Acinetobacter* infection. *J Infect Dis* 1979; **140**:275-6.
- McDonald LC, Banerjee SN, Jarvis WR. Seasonal variation of *Acinetobacter* infections: *Clin Infect Dis* 1987-1996. 1999; **29**:1133-7.
- Hsueh P, Teng L, Chen CH, Chen W, Yu Ch, Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis*. 2002; **8** (8):827-831
- Sinha M, H. Srinivasa & R. Macaden. Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species. *Indian J Med Res* 2007; **126**: 63-67
- Naas T, Coignard B, Carbonne A, Blanckaert K. VEB-1 Extended-Spectrum β -Lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France 1. *Emerg Infect Dis*. 2006; **12** (8) P: 1214-1220
- Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Weyant RS, Hollis DG. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative rods. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. *Manual of clinical microbiology*. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, 2007; pp:770-802.
- Carey RB, Banerjee SN, Srinivasan A. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infections, 1995-2004. Presented at the 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, September. 2006; pp: 27-30.
- Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006; **43**: 2:49-56.
- Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM. *Diagnostic Microbiology*, 3rd ed, Philadelphia; Lippincott, 1990; pp:90-102, 473-484.
- Singh S. Extended-Spectrum beta-Lactamases: An overview, *Diagnostic Laboratory Services*. ,Hawaii, INC.1999 ;pp:1-3
- Bergogne-Berezin E, Fridman H, Bendinelli M, *Acinetobacter* biology and pathogenesis, New York, Springer, 2008 ; pp 1,14,120-124
- Gerner-Smidt P. *Acinetobacter*: epidemiological and taxonomic aspects. *APMIS* 1994; **102** (Suppl 47) : 1-42.
- Acinetobacter baumannii* infections among patients at military medical facilities treating injured U.S. service members, . *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; **53**:1063-6.
- Tong MJ. Septic complications of war wounds. *JAMA* 1972; **219**:1044-7.
- Washington W, Elmer K, Stephen A, William J, Gary P, Paul S *et.al* . Organisms that are nonmotile and oxidase negative, genus: *Acinetobacter*, in : *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 6th ed, illustrated, United States of America, Lippincott Williams & Wilkins. 2005; pp: 353-359
- National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 15th informational supplement (M100-s15). National Committee For Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 2005.
- National Committee For Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial

- susceptibility testing for bacteria that grow aerobically, 2000; M7-A5, ed.NCCLS, Villanova, Pa.
19. Paterson DL, and Bonomo RA. Extended-Spectrum beta-Lactamases:a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, 2005; **18** (4): 657-86.
20. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the national committee for clinical laboratory standards Extended-Spectrum beta-Lactamase detection Methods, *J Clin Microbiology*, 2001; **39**:(8): 2864-2872
21. Yu Y, Yang Q, Xu X, Kong H, Xu G and Zhong B, Typing and characterization of carbapenem resistant *Acinetobacter calcoaceticus* -*baumannii* complex in a Chinese hospital, *J Med Microbiol* 2004; **53**: 653-656
22. Pagani L, Amico E, Migliavacca R, D'Andrea M, Giacobone E, Amicosante G, *et al.* Multiple CTX-Mtype extended-spectrum β -lactamases in nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from a hospital in Northern Italy. *J. Clin. Microbiol.* 2003; **41**:4264-4269.
23. Lee.S, Joong Kim.N, Choi. S, Kim. T, Chung. J, Ryu. W, *et al.* Risk Factors for Acquisition of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: a Case-Control Study, *Antimicrob Agents Chemother*, 2004; **48**(1):224-228
24. Poirel L, Karim A, Mercat A, Le Thomas I, Vahaboglu H, Richard C, *et al.* Extended-spectrum β -lactamase-producing strain of *Acinetobacter baumannii* isolated from a patient in France. *J Antimicrob Chemother* 1999; **43**: 157-165
25. Sinha M, Srinivasa H, Macaden R, Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species, *Indian J Med Res* 2007; 126: 63-67
۲۶. سعادتیان فریبور آرزو، نوروزی جمیله، امامی . میزان فراوانی اسیتوباکتر در بخش مراقبت‌های ویژه جراحی مجتمع رسول اکرم، مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان. جلد چهارم، شماره چهار- ب، زمستان ۸۴، صص ۳۴۲-۳۴۷
27. Hujer K , Hujer A , Hulten E, Bajaksouzian S , Adams J, Donskey C, *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, *Antimicrob Agents Chemother.* 2006, **50**, No. 12, p. 4114-4123
28. JIN Hui, XU Xiao-min, MI Zu-huang, MOU Yi . LIU Pei, Drug-resistant gene based genotyping for *Acinetobacter baumannii* in tracing epidemiological events and for clinical treatment within nosocomial settings, *Chinese Medl J* 2009; **122**(3):301-306
29. Celenza . G, Pellegrini. C, Caccamo. M, Segatore. B, Amicosante. G and Perilli. M, Spread of blaCTX-M-type and blaPER-2 β -lactamase genes in clinical isolates from Bolivian hospitals *J Antimicrob Chemother*, 2006; **57**: 975-978
30. chen. Ch , Young. T, Huang . Ch, Predictive biomarkers for drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates with bla_{TEM-1} Amp C -type bla and integrase 1 genotypes, *J Microbiol Immunol Infect*, 2006; **39**:372-379