

بررسی ارتباط ژن‌های bla OXA با مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اسیتوباکتر جدا شده از مراکز درمانی استان البرز در سال ۱۳۹۶

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۱/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۲

چکیده

زمینه و اهداف: با توجه به گسترش عفونت‌های ناشی از اسیتوباکترهای مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف در سال‌های اخیر در ایران، این مطالعه در جهت تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تعیین شیوع ژن‌های تیپ bla و bla_{oxa23} در oxa₁₀ سویه‌های اسیتوباکتر جدا شده از بیماران بستری در مراکز درمانی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: با استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی و آزمون‌های بیوشیمیایی از تعداد ۷۵ ایزوله بالینی اسیتوباکتر جمع آوری شده از بیماران بستری در مراکز درمانی استان البرز ۷۰ ایزوله به عنوان اسیتوباکتر بومانی با روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی شناسایی شدند. از روش انتشار دیسک (Disk diffusion) براساس دستورالعمل CLSI جهت تعیین هویت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها استفاده شد. در این پژوهش از ۱۴ دیسک آنتی‌بیوتیک استفاده گردید. در نهایت از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) جهت بررسی شیوع ژن‌های bla_{oxa23} و bla_{oxa10} در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی استفاده شد. از ژن bla_{oxa51} که مشخصه اسیتوباکتر بومانی هست جهت تأیید قطعی ایزوله‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که صد درصد مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، سولفومتوکسازول، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفوکسیتین، ایمپنم، مروپنم و پیپراسیلین - تازوباکتام و کمترین میزان مقاومت مربوط به کولسیتین (صفر درصد)، تو برومایسین (۷۸/۵ درصد)، آمپی سیلین سولباکتام (۹۲/۸ درصد)، لووفلوکساسین، سفپیم و سفنازیدیم هر کدام ۹۸/۵ درصد بود. نتایج PCR جهت شناسایی سویه‌های حاوی ژن‌های مقاومت نشان داد که شیوع ژن‌های bla_{oxa23} و bla_{oxa10} به ترتیب ۹۰ درصد و ۶۱ درصد تمام نمونه‌ها است. ژن bla_{oxa51} در ۱۰۰ درصد ایزوله‌ها یافت شد.

نتیجه‌گیری: بررسی حاضر حاکی از آن است که باکتری اسیتوباکتر بومانی در بیماران بستری در مراکز درمانی استان البرز از شیوع بالایی برخوردار است. با توجه به شناسایی ژن‌های bla_{oxa23}، bla_{oxa10} و bla_{oxa51} در اسیتوباکتر و امکان انتقال آن به دیگر باکتری‌ها، توصیه می‌شود در الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و معیارهای کنترل عفونت‌های بیمارستانی تجدید نظر گردد.

کلمات کلیدی: اسیتوباکتر، بتالاکتاماز، آگراسیلیناز، مقاومت آنتی‌بیوتیک

محمد جعفری^۱؛ میترا صالحی^{۲*}؛
پرویز پاکزاد^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی
گرایش میکروبیولوژی، دانشکده علوم
زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران
شمال، تهران، ایران
استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده
علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد
تهران شمال، تهران، ایران
^۲ استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم
زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران
شمال، تهران، ایران

نویسنده مسئول:

استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده
علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد
تهران شمال، تهران، ایران

۰۹۱۲۳۲۱۱۷۹۴
Email: Mitra_salehi_microbiology@yahoo.
com

مقدمه

جنس اسیتوباکتر (*Acinetobacter*) شامل باکتری هایی است گرم منفی، پلی مورف، غیر متحرک، هوازی اجباری و معمولاً کپسول دار که بر روی محیط های معمولی آزمایشگاهی به آسانی رشد می کنند. اسیتوباکتر بومانی در ترشحات انسانی مانند خلط، ادرار، مدفوع و ترشحات واژن یافت می شود.

عفونت های ناشی از این باکتری شامل عفونت های مجاری ادراری، عفونت های زخم، مننژیت، اندوکاردیت، پریتونیت، عفونت پوست و بافت نرم است.^۱

ریسک فاکتورهای متعدد مستعد کننده عفونت با این باکتری شامل: بستری طولانی مدت در بیمارستان، نقص ایمنی، اعمال جراحی، تماس طولانی با بیماران کلونیزه شده، سوختگی، کهولت سن، مصرف عوامل آنتی باکتریال وسیع الطیف و وجود وسایل تهاجمی مثل کاتتر است.^۲

اسیتوباکتر بومانی از بخش هایی مانند ICU، جراحی و سوختگی بیشتر جدا می شوند. یکی از خصوصیات خاص اسیتوباکتر علاوه بر مقاومت ذاتی در مقابل شرایط محیطی، توانایی خارق العاده آن در کسب و بیان ژن های متعدد عامل مقاومت های دارویی است، به شکلی که امروزه این باکتری در برابر اکثر آنتی بیوتیک ها مقاوم بوده و درمان عفونت های اسیتوباکتر از مشکلات عمده جامعه پزشکی در دنیا می باشد. مقاومت در این باکتری ها یا ذاتی است و یا از طریق عوامل ژنتیکی متحرک از باکتری های دیگر کسب می گردد.^{۳، ۴}

مکانیسم های مختلفی در ایجاد مقاومت ایزوله های اسیتوباکتر نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام دخالت دارند که تولید آنزیم های بتالاکتاماز توسط این باکتری، از مهم ترین عوامل ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها است.^۵

در این پژوهش الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به ۱۴ آنتی بیوتیک شامل: سفوتاکسیم، پپراسیلین تازوباکتام، سفنازیدیم، سیپروفلوکساسین، سولفومتوکسازول، سفوکسیتین، سفپیم، سفتریاکسون، لوفلوکساسین، مروپنم، ایمپنم، کولسیتین، توبروماکسیم و آمپی سیلین سولباکتام بر اساس جدول CLSI 2017 بررسی شد.^۶ نتایج نشان داد بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های اسیتوباکتر به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های

سیپروفلوکساسین، سولفومتوکسازول، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفوکسیتین، ایمپنم، مروپنم و پپراسیلین تازوباکتام است و کمترین میزان مقاومت به ترتیب نسبت به کولسیتین (صفر درصد)، توبروماکسیم (۷۸/۵ درصد)، آمپی سیلین سولباکتام (۹۲/۸ درصد)، لوفلوکساسین، سفپیم و سفنازیدیم هر کدام ۹۸/۵ درصد بود. و در نهایت برای بررسی شیوع ژن های بتالاکتامازی bla_{oxa10}، bla_{oxa23} و bla_{oxa51} با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، PCR انجام شد. نتایج نشان داد که ۱۰۰ درصد نمونه ها دارای ژن bla_{oxa51} و ۹۰ درصد نمونه ها دارای ژن bla_{oxa23} و ۶۱ درصد نمونه ها دارای ژن bla_{oxa10} است.

روش کار و تحقیق

نمونه گیری و کشت

نمونه ها بصورت روزانه از بخش ICU مراکز درمانی استان البرز به آزمایشگاه ارسال و در پلیت های حاوی محیط کشت مک کانکی و EMB و بلاد آگار کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد تست تعیین هویت آنتی بیوتیکی با روش Disk diffusion با استفاده از دیسک های آنتی بیوتیکی شرکت پادتن طب انجام گردید، تعیین حساسیت به روش دیسک دیفیوژن استاندارد (Kirby-Bauer) انجام گرفت. برای این منظور ابتدا سوپانسیون از کلنی باکتری ها برابر با غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه شد و با سواب استریل به خوبی بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار پخش شد. پس از این مرحله دیسک های آنتی بیوتیکی بر اساس جدول CLSI به فواصل استاندارد بر روی پلیت قرار گرفت. پس از آن پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند و قطرهاله عدم رشد پس از انکوباسیون بوسیله خط کش آنتی بیوگرام برای هر آنتی بیوتیک اندازه گیری شد.

سپس برای خالص سازی به محیط BHB منتقل شدند. ۷۰ سوبه از نمونه های بالینی ترشحات ریه بیماران بستری در ICU که به آزمایشگاه ارسال شده، به عنوان اسیتوباکتر تشخیص داده شدند، در مرحله بعد تست های بیوشیمیایی و تأییدی بر روی آنها انجام گردید. سپس برای نمونه های تولید کننده ژن های بتالاکتاماز واکنش زنجیره پلیمراز (PCR) انجام شد. در نهایت آشکارسازی و آنالیز محصول PCR

توسط الکتروفورز در ژل آگارز انجام گردید.

شناسایی

شناسایی فنوتیپی

تمامی اعضای اسیتوباکتر در طیف وسیعی از دما رشد کرده و هوازی مطلق می‌باشند. بیشتر سویه‌ها روی محیط ساده حاوی کربن و منبع انرژی رشد می‌کنند.³

تشخیص آزمایشگاهی

اکسیداز منفی، OF گلوکز مثبت، عدم تحرک در محیط SIM، عدم تخمیر قندها در TSI، رشد در دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد و ایجاد کلونی صورتی صاف روی محیط مک کانکی می‌باشد.

تشخیص ژنوتیپی (مولکولی)

جداسازی ژن bla OXA-51 به روش PCR جهت تأیید حضور اسیتوباکتر به کار می‌رود.

فریز کردن نمونه‌های اسیتوباکتر

یک کلنی از کشت خالص ۲۴ ساعته در ۱/۵ میلی‌لیتر از محیط TSB گلیسرول که درون میکروتیوپ‌های استریل از قبل آماده شده بود تلقیح گردید و پس از بستن درب میکروتیوپ‌ها بوسیله نوار پارافین، میکروتیوپ‌ها به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد به منظور انجام مراحل بعدی منتقل شد.

استخراج DNA ایزوله‌های اسیتوباکتر

استخراج ژن از کیت کره‌ای Gene All با استفاده از پروتکل داخل کیت انجام شد. پس از استخراج DNA با استفاده از کیت Gene All و به منظور اطمینان از حضور DNA و همچنین غلظت و کیفیت نسبی آن از الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد.

واکنش زنجیره پلیمرز PCR

روی نمونه‌های جدا شده از بیماران با استفاده از پرایمرهای

اختصاصی سیکل PCR انجام می‌دهند. در این تحقیق جهت بررسی مولکولی ژن bla OXA 23, bla OXA51 و bla OXA10 در سویه‌ها از پرایمرهای (جدول ۱) استفاده شد. پرایمرهای bla OXA23 و bla OXA51 از مقالات گرفته شد^{۸،۷} و پرایمر bla OXA10 با کمک نرم‌افزار Gene Runner طراحی و با استفاده از NCBI بلاست گردید. باید در نظر داشت طول قطعاتی که توسط این پرایمرها شناسایی شد، برای هر یک از این ژن‌ها متفاوت بوده است. طول توالی که توسط پرایمرهای مربوط به ژن bla OXA 51 شناسایی شد 641 bp، طول توالی که توسط پرایمرهای ژن bla OXA23 شناسایی شد 1064 bp و طول توالی که توسط پرایمرهای مربوط به ژن bla OXA10 شناسایی شد 501 bp است.

الکتروفورز محصول PCR

به منظور تأیید PCR، مقداری از محصول PCR به همراه بافر انتقال (Loading Buffer) درون چاهک مربوطه در ژل قرار می‌گیرد. ژل در بافر الکتروفورز قرار دارد و جریان الکتریکی در دو سر آن برقرار است. پس از اتمام الکتروفورز ژل مربوطه جهت مشاهده اسید نوکلئیک با نور UV بررسی می‌گردد.

نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌ها

جداسازی و شناسایی

در این تحقیق به طور کلی ۷۵ نمونه از بیماران مشکوک در مراکز درمانی استان البرز در طی مدت ۸ ماه جمع‌آوری گردید. نتایج حاصل از کشت بر روی محیط‌های انتخابی و افتراقی نشان داد که از ۷۵ نمونه جمع‌آوری شده تعداد ۷۰ ایزوله به عنوان جنس اسیتوباکتر شناسایی شدند.

نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی اسیتوباکتر

نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی انجام شده در (جدول ۲) نشان داده شده است.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

نام ژن	توالی نوکلئوتید پرایمر
OXA-23 F	GATGTGTCATAGTATTCGTCG-3'
OXA-23 R	TCACAACAACCTAAAAGCACTG-3'
OXA51-F	5'-ACAAGCGCTATTTTATTTTCAG-3'
OXA51-R	5'-CCCATCCCCAACCACCTTTT-3'
OXA10-F	5-GAAAGCCAAGAGCCATGAAG-3
OXA10-R	5-TTGTCAATGCCACCACTGAT-3

جدول ۲: برنامه دما، زمان و چرخه ترموسایکلر با استفاده از پرایمرها bla OXA 23, bla OXA51

مرحله	ساخت پایانی	تعداد سیکل	ساخت	اتصال	واسرشت	واسرشت اولیه
دما	۷۲	-	۷۲	۵۶	۹۵	۹۵
زمان	۵ دقیقه	۳۵	۳۰"	۳۰"	۳۰"	۵ دقیقه

جدول ۳: برنامه دما، زمان و چرخه ترموسایکلر با استفاده از جفت پرایمرهای bla OXA10

مرحله	ساخت پایانی	تعداد سیکل	ساخت	اتصال	واسرشت	واسرشت اولیه
دما	۷۲	-	۷۲	۵۷	۹۵	۹۵
زمان	۵ دقیقه	۳۵	۳۰"	۳۰"	۳۰"	۵ دقیقه

جدول ۴: آزمون‌های بیوشیمیایی برای تشخیص باکتری اسپیتوباکتر

نتیجه	تست
-	SIM
-	MR-VP
ALK/ALK	TSI
آبی	سیمون سترات
سبز	OF
+	کاتالاز
-	اکسیداز
زرد	بدون پارافین OF

درصد ایزوله‌های اسیتوباکتر بر حسب جنسیت

در ۷۰ نمونه ای که پس از انجام تست‌های تشخیصی و بیوشیمیایی به عنوان اسیتوباکتر شناسایی شدند ۴۹ نمونه (۷۰ درصد) متعلق به مردان و ۲۱ نمونه (۳۰ درصد) متعلق به زنان بود.

نتایج استخراج DNA

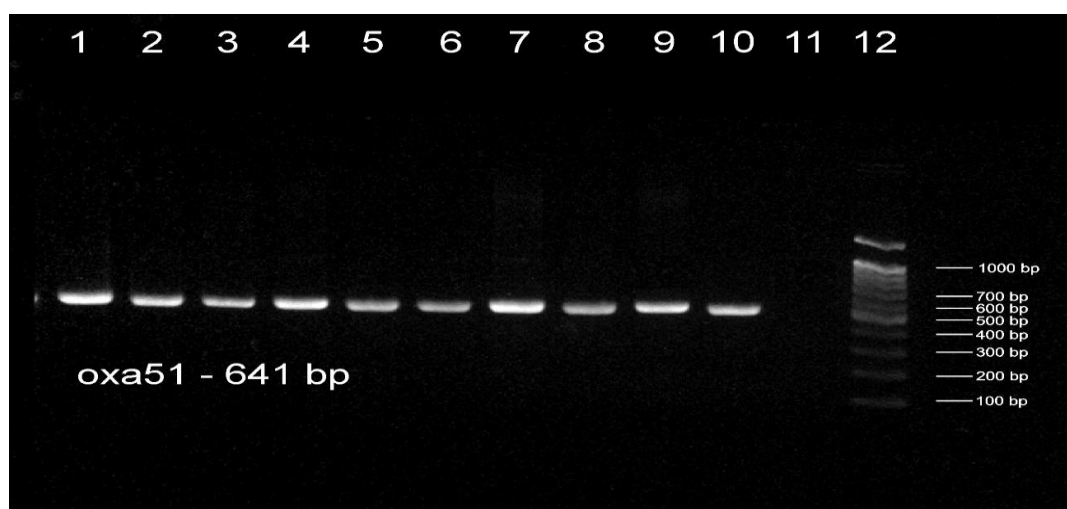
میانگین جذب نوری (OD) نمونه‌ها در نسبت‌های OD= 260 به OD=280 برابر با ۱/۸ بود که نشان داد نمونه‌ها فاقد آلودگی به RNA یا پروتئین هستند.

نتایج تست آنتی بیوگرام

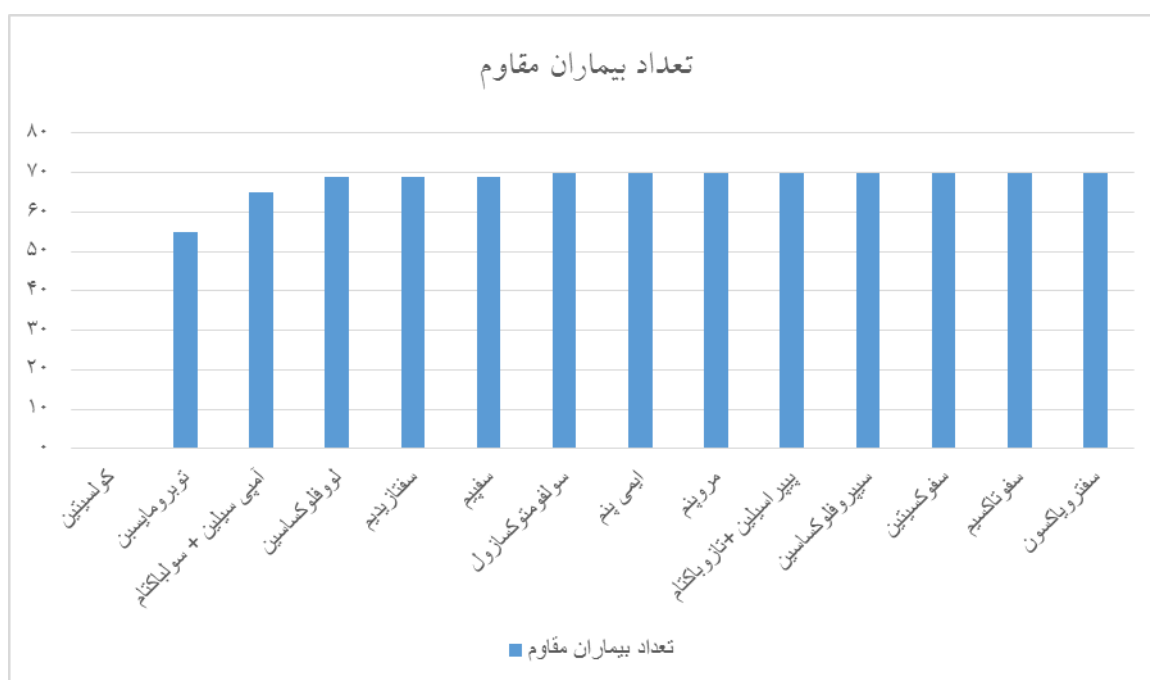
نتایج تست آنتی بیوگرام ۷۰ نمونه نشان داد که هیچ کدام از نمونه‌ها به کولسیتین مقاوم نبوده و ۶۹ مورد به آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین، سفپیم و سفنازیدیم مقاوم بودند. ۵۵ نمونه به توبرومايسين و ۶۵ نمونه به آمپی سیلین سولباکتام مقاوم بودند و همه نمونه‌ها به بقیه آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه مقاوم بودند (نمودار ۱).

نتایج بدست آمده در بررسی ژن bla OXA 51

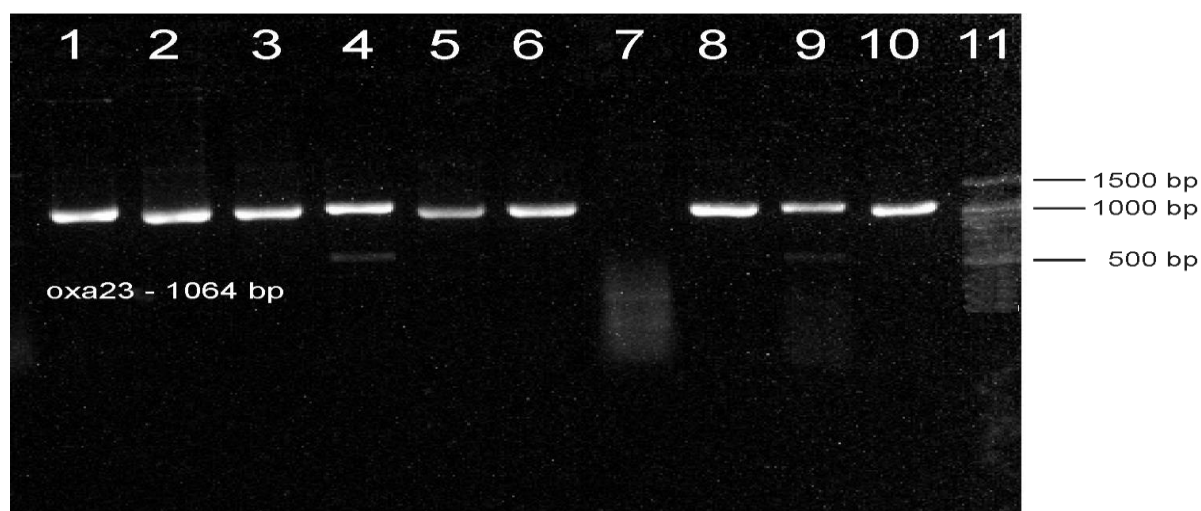
از مجموع ۷۰ نمونه، ۷۰ نمونه (۱۰۰ درصد) دارای ژن OXA 51 bla بودند. چون مشخصه اسیتوباکتر بومانی، bla OXA 51 هست، پس همه ایزوله‌ها اسیتوباکتر بومانی بودند (شکل ۱).



شکل ۱: الکتروفورز محصول تکثیر شده ژن blaOXA 51 در سویه‌های اسیتوباکتر با PCR، ستون اول تا دهم محصول تکثیر شده ژن blaOXA 51 با 641 bp، ستون یازده کنترل منفی و ستون دوازدهم مارکر DNA Ladder.



نمودار ۱: فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های اسیتوباکتر



شکل ۲: الکتروفورز ژن *blaOXA23* در سویه های اسیتوباکتر با PCR. ستون یک تا ده *blaOXA23* با 1064 bp، ستون یازدهم مارکر DNA Ladder

23 در جدول ۵ نشان داده شده است. براساس نتایج ارائه شده، نوع آنتی‌بیوتیک تاثیر معنی داری بر همه پارامترهای مورد بررسی داشت و تعداد ایزوله مقاوم، جدایه‌های دارای ژن bla OXA 10، bla OXA 23، جدایه‌های دارای دو ژن به صورت همزمان و همچنین جدایه‌های فاقد هر دو ژن به صورت معنی‌داری تحت تاثیر نوع آنتی‌بیوتیک قرار گرفتند ($P < 0.01$; جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین تاثیر نوع آنتی‌بیوتیک بر تعداد ایزوله‌های مقاوم جدایه‌های دارای ژن bla OXA 10، bla OXA 23، جدایه‌های دارای دو ژن به صورت همزمان و همچنین جدایه‌های فاقد هر دو ژن در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی وجود داشت و کمترین تعداد ایزوله مقاوم در آنتی‌بیوتیک Colistin به دست آمد و هیچ جدایه مقاوم در برابر این آنتی‌بیوتیک جداسازی نشد. همچنین ۵۵ و ۶۵ جدایه مقاوم به ترتیب در آنتی‌بیوتیک‌های توبرامایسین و آمپی سیلین+سولбакتام شناسایی شد که به ترتیب ۷۸/۵۷ و ۹۲/۸ درصد جدایه‌های مورد بررسی بود. در مجموع نتایج نشان داد که ۷۰ ایزوله بررسی شده در برابر آنتی‌بیوتیک کولستین مقاوم نبودند. تفاوت معنی‌داری بین آنتی‌بیوتیک‌های لووفلاکساسین، سفیم و سفنازیدیم و همچنین بین آنتی‌بیوتیک‌های CRO، CTX، CP، JPM، MEN، PI+TZ و SXT از نظر جدایه‌های دارای ژن bla OXA 23 وجود نداشت (جدول ۶).

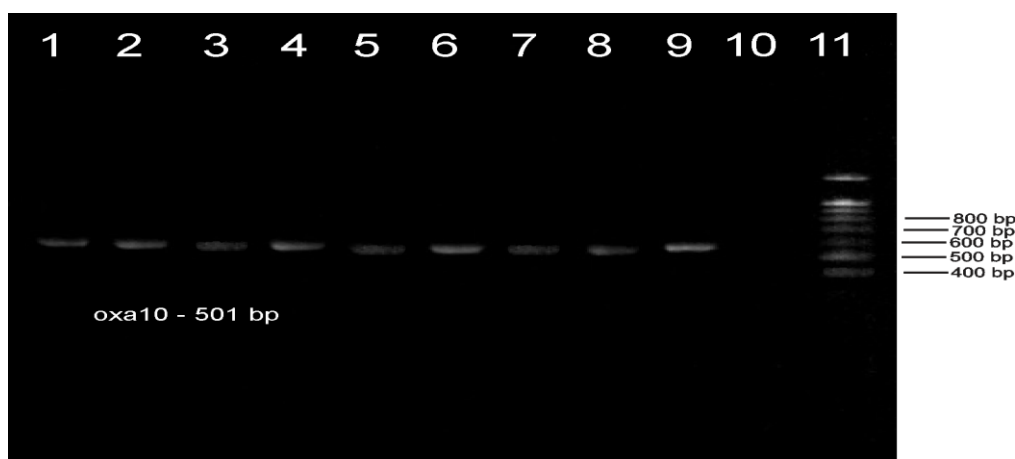
نتایج بدست آمده در بررسی ژن bla OXA 23

با استفاده از دو جفت پرایمر OXA 23-R و OXA 23-F و انجام PCR وجود یا عدم وجود ژن bla OXA 23 در نمونه‌های جدا شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج PCR جهت شناسایی سویه‌های حاوی ژن OXA 23 نشان داد از مجموع ۷۰ نمونه ۶۳ نمونه یعنی ۹۰ درصد حضور ژن bla OXA 23 را نشان دادند (شکل ۲).

نتایج بدست آمده در بررسی ژن bla OXA 10

با استفاده از پرایمرهای اختصاصی bla OXA 10، وجود یا عدم وجود این ژن در ایزوله‌ها با استفاده از PCR بررسی شد. از مجموع ۷۰ نمونه، ۴۳ نمونه (درصد) دارای ژن bla OXA 10 بودند (شکل ۳).

از ۷۰ نمونه به ترتیب ۱۰۰ درصد نمونه‌ها (۷۰ نمونه) bla OXA51 که مشخصه اسپیتوباکتریومانی هست را دارند و ۹۰ درصد (۶۳ نمونه) از ایزوله‌ها حامل ژن‌های کد کننده آنزیم‌های بتالاکتامازی bla OXA 23 و ۶۱ درصد (۴۳ نمونه) bla OXA 10 بودند. ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه با ژن‌های مورد نظر به صورت تفکیک شده و نیز وجود همزمان دو ژن، بررسی و نتیجه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس تاثیر نوع آنتی‌بیوتیک بر تعداد ایزوله‌های مقاوم و جدایه‌های دارای ژن bla OXA 10 و bla OXA



شکل ۳: الکتروفورز محصول تکثیر شده ژن blaOXA10 در سویه‌های اسپیتوباکتر ستون یک تا نه محصول تکثیر شده ژن blaOXA10 با 501 bp، ستون ده کنترل منفی، ستون یازده مارکر DNA Ladder

جدول ۵: نتایج تجزیه واریانس تاثیر نوع آنتی‌بیوتیک بر تعداد ایزوله‌های مقاوم، جدایه‌های دارای ژن bla OXA 10، bla OXA 23، جدایه‌های دارای دو ژن به صورت همزمان و همچنین جدایه‌های فاقد هر دو ژن

منبع تغییرات	درجه آزادی	تعداد ایزوله مقاوم		دارای ژن bla OXA 10		دارای ژن bla OXA 23		دارای هر دو ژن		فاقد هر دو ژن	
		P_value	MS	P_value	MS	P_value	MS	P_value	MS	P_value	MS
تکرار	۲	۰/۰۰۰۱	۱۲/۰۷	۰/۰۰۰۱	۱۰/۰۷	۰/۰۰۰۱	۱۰/۱۱	۰/۰۰۰۱	۱۱/۰۱	۰/۰۰۰۱	۱۳/۱
آنتی‌بیوتیک	۱۳	۰/۰۰۰۱	۱۰۴۶/۵۸	۰/۰۰۰۱	۳۹۲/۲۴	۰/۰۰۰۱	۸۴۹/۲۳	۰/۰۰۰۱	۳۵۵/۴۶	۰/۰۰۰۱	۵/۴۲
خطا	۲۶	۰/۰۷۱	—	۰/۰۸۳	—	۱/۸۵	—	۰/۰۸۵	—	۱/۸۵	—
ضریب تغییرات	—	۰/۲۷	—	۰/۲۸	—	۰/۲۶	—	۰/۷۲	—	۰/۹۳	—

** معنی دار در سطح احتمال یک درصد؛ MS: میانگین مربعات

جدول ۶: جدول ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها با ژن‌های مورد مطالعه

آنتی‌بیوتیک	ایزوله مقاوم		دارای ژن bla OXA 10		دارای ژن bla OXA 23		دارای هر دو ژن		فاقد هر دو ژن	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Tobramycin (TOB)	۵۵d	۷۸/۵۷	۳۶d	۶۵/۴۵	۴۹c	۸۹/۰۹	۳۴d	۶۱/۸	۴b	۷/۲۷
Ampicillin+Sulbactam (SAM)	۶۵b	۹۱/۸	۴۰c	۶۱/۵۳	۵۹d	۹۰/۷۶	۳۸c	۵۸/۴۶	۴b	۶/۱۵
Levofloxacin (LEVO)	۶۹b	۹۸/۵	۴۳a	۶۲/۳۱	۶۲b	۸۹/۸۵	۴۰b	۵۷/۹۷	۵a	۷/۲۴
Cefepime (FEP)	۶۹b	۹۸/۵	۴۲b	۶۰/۸۶	۶۲b	۸۹/۸۵	۴۰b	۵۷/۹۷	۵a	۷/۲۴
Ceftazidime (CAZ)	۶۹b	۹۸/۵	۴۳a	۶۲/۳۱	۶۲b	۸۹/۸۵	۴۱a	۵۹/۴۲	۵a	۷/۲۴
Cefoxitin (CFO)	۷۰a	۱۰۰	۴۳a	۶۱/۴۲	۶۳a	۹۰	۴۱a	۵۸/۵۷	۵a	۷/۱۴
Cefotaxime (CTX)	۷۰a	۱۰۰	۴۳a	۶۱/۴۲	۶۳a	۹۰	۴۱a	۵۸/۵۷	۵a	۷/۱۴
Ceftriaxone (CRO)	۷۰a	۱۰۰	۴۳a	۶۱/۴۲	۶۳a	۹۰	۴۱a	۵۸/۵۷	۵a	۷/۱۴
Ciprofloxacin (CP)	۷۰a	۱۰۰	۴۳a	۶۱/۴۲	۶۳a	۹۰	۴۱a	۵۸/۵۷	۵a	۷/۱۴
Imipnem (IPM)	۷۰a	۱۰۰	۴۳a	۶۱/۴۲	۶۳a	۹۰	۴۱a	۵۸/۵۷	۵a	۷/۱۴
Meropenem (MEN)	۷۰a	۱۰۰	۴۳a	۶۱/۴۲	۶۳a	۹۰	۴۱a	۵۸/۵۷	۵a	۷/۱۴
Piperacillin+Tazobactam (PI+TZ)	۷۰a	۱۰۰	۴۳a	۶۱/۴۲	۶۳a	۹۰	۴۱a	۵۸/۵۷	۵a	۷/۱۴
Co-Trimoxazole (SXT)	۷۰a	۱۰۰	۴۳a	۶۱/۴۲	۶۳a	۹۰	۴۱a	۵۸/۵۷	۵a	۷/۱۴
Colistin (COL)	۷۰e	۰	۷۰e	۰	۷۰e	۰	۷۰e	۰	۷۰c	۰

بحث و پیشنهادات

بحث

جنس اسیتوباکتر، پاتوژن فرصت طلب با قدرت بیماریزایی بالا و یکی از عوامل عفونت های بیمارستانی طی ۳۰ سال گذشته است. در طرح نظارت میکروبی که در سال ۲۰۱۱ بر روی ایزوله های باسیل گرم منفی غیر تخمیری انجام شد سویه های اسیتوباکتر رتبه دوم را در بین باکتری های غیر تخمیری در ایجاد عفونت های بیمارستانی دارا بودند. بسیاری از بیماری های خطرناک و کشنده انسان از طریق عفونت های بیمارستانی به دنبال جراحی، ضعف سیستم ایمنی افراد، جراحات در بیمارستان ها، احتمال آلودگی و عفونت های ثانویه با باکتری های بیماری زای فرصت طلب گسترش می یابد. تعیین حساسیت ضد میکروبی در مواقعی که عامل بیماریزا نسبت به آنتی بیوتیک های رایج با دوز معمول مقاوم باشد لازم و ضروری به نظر می رسد. مقایسه نتایج مطالعه حاضر در ایران با دیگر کشورهای جهان نشان دهنده مقاومت بسیار بالای اسیتو باکترهای جدا شده از نمونه های بالینی ایران است.^۹

مقاومت نسبتا بالای نمونه های جدا شده به آنتی بیوتیک های مانند: سفنازیدیم، سفپیم، آمیکاسین، سیپروفلوکساسین، اریترومايسين و تراسایکلین می تواند در اثر مصرف بیش از حد این آنتی بیوتیک ها چه به صورت خالص یا به صورت ترکیبی جهت درمان بیماران باشد. مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های خانواده آمینوگلیکوزیدها، سفالوسپورین ها و کوئینولون ها مقاومت شناخته شده ای هستند که توسط عناصر قابل انتقال مانند پلاسمید، ترانسپوزون ها و اینتگرون ها قابل انتقال می باشند.^{۱۰} در سال ۲۰۰۷ توسط آقای فردریکو پرز و همکاران تحقیقی بر روی چالش های جهانی مقاومت چند گانه دارویی اسیتوباکتر بومانی انجام شد که نتایج تحقیق نشان دهنده افزایش روز به روز مقاومت اسیتوباکتر نسبت به آنتی بیوتیک های رایج از طریق روش های انتقال مولکولی مثل: پلاسمیدها، ترانسپوزون ها و اینتگرون ها بود.^{۱۱} نتایج آنتی بیوگرام سویه های جدا شده در ایران در مقایسه با دیگر کشورها نشان می دهد که میزان مقاومت سویه های ایران بالاتر از سویه های دیگر در سایر کشورها است.^{۱۲}

امروزه گسترش ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی از طریق

جهش های ژنی و یا کاهش و افزایش بیان ژن های موجود در این باکتری به مشکل مهمی در درمان عفونت های حاصل از باکتری های بیماریزا تبدیل شده است. انتشار ژن های مقاومت به وسیله انتقال افقی ژن منجر به گسترش سریع مقاومت آنتی بیوتیکی در بین ایزوله های کلینیکی باکتری ها می گردد. ژن های مقاومت اکثرا به وسیله ی پایانه هایی که رمز کننده مقاومت به آنتی بیوتیک ها است بر روی عناصر ژنتیکی متحرک مانند پلاسمید، ترانسپوزون و اینتگرون جا به جا می گردند.^{۱۳} با توجه به اینکه فاکتورهای محیطی و الگوهای مختلف استفاده از عوامل ضد میکروبی در ایجاد و گسترش این سویه ها در نقاط مختلف دنیا نقش دارند و با توجه به اینکه داشتن اطلاعات در زمینه میزان شیوع این نوع آنتی بیوتیکی در کنترل، پیشگیری و درمان عفونت های ناشی از اسیتوباکتر حائز اهمیت هستند، لذا این مطالعه با هدف تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی و بررسی ارتباط آنزیم بتالاکتامازی bla oxa10، bla oxa23 و bla oxa51 با مقاومت آنتی بیوتیک در سویه های اسیتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه های بالینی مراکز درمانی استان البرز به روش فنوتیپی و ژنوتیپی انجام گردید.

در این پژوهش الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به ۱۴ آنتی بیوتیک بر اساس جدول CLSI بررسی شد. نتایج نشان داد بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های اسیتوباکتر به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، سولفومتوکسازول، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفوکسیتین، ایمی پنم، مروپنم و پیراسیلین-تازوباکتام است و کمترین میزان مقاومت به ترتیب نسبت به کولسیتین (صفر درصد)، توپرومایسین (۷۸/۵ درصد)، آمپی سیلین سولباکتام (۹۲/۸ درصد)، لووفلوکساسین، سفپیم و سفنازیدیم هر کدام ۹۸/۵ درصد بود در حالی که در مطالعه ای مشابه در اردن در سال ۲۰۱۱ مقاومت به ترتیب نسبت به سفوتاکسیم، سفنازیدیم و آمیکاسین گزارش شده است.^{۱۲} مقایسه نتایج مطالعه حاضر با مطالعه اردن نشان دهنده این واقعیت است ایزوله های مطالعه حاضر نسبت به ایزوله های جدا شده در اردن مقاومت بالاتری را نشان می دهند. این موضوع می تواند به دلیل استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها برای درمان بیماران باشد.^{۱۲}

در تحقیق حاضر از ۷۰ نمونه به ترتیب ۴۳ نمونه (۶۱ درصد) دارای bla oxa10، ۶۳ نمونه (۹۰ درصد) دارای bla oxa23 و هر ۷۰

نمونه (۱۰۰ درصد) دارای ژن bla oxa51 بودند.

در این مطالعه همانند Wang و همکارانش در سال ۲۰۰۳ و Smolyakov و همکارانش در سال ۲۰۰۳ مشخص گردید که اغلب سوبه ها به سفنازیدیم و سفوناکسیم مقاوم بودند.^{۱۴} در مقاله ای که در سال ۱۳۹۲ مریم رحمانی و همکاران با موضوع بررسی حضور اگزاسیلینازها در اسیتوباکتر بومانی جدا شده از بیمارستان نمازی شیراز و امام خمینی تهران انجام دادند، حضور ژن های bla OXA23 و bla OXA58 و bla OXA24 را به ترتیب ۸۲/۱ درصد و ۴/۳ درصد و ۰/۷ درصد نشان دادند و تمامی ۱۴۰ ایزوله دارای bla OXA51 بودند. مشابه با همین تحقیق که نتیجه حضور ۹۰ درصد ژن bla OXA23 را نشان داد، حضور بالای ژن bla OXA23 مقاله مریم رحمانی و همکاران در ایزوله های مقاوم به کارباپنم اسیتوباکتر بومانی بر اهمیت آن در القای مقاومت به کارباپنم تأکید دارد.^{۱۵}

در سال ۱۳۹۳ فهیمه بهادری عظیم آبادی و همکاران ژن های اگزاسیلیناز در ایزوله های اسیتوباکتر بومانی مقاوم به کارباپنم در بیمارستان شهید محمدی بندر عباس مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که ۹۴/۷ درصد ایزوله ها دارای ژن bla OXA51 و ۸۷/۵ درصد دارای ژن bla OXA23 و ۹/۷ درصد ایزوله ها دارای ژن bla OXA24 بودند. و نتایج آن با نتایج مطالعه حاضر که ۶۳ نمونه (۹۰ درصد) دارای bla oxa23 و هر ۷۰ نمونه (۱۰۰ درصد) دارای ژن bla oxa51 بودند مشابهت دارد.^{۱۶}

در سال ۱۳۹۱ اعظم رحیم زاده و همکاران در مطالعه ای با عنوان بررسی شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف OXA2 و OXA10 و ایتنگرون کلاس یک در اسیتوباکتر بومانی ایزوله شده از بیماران شهر تبریز به این نتیجه رسیدند که بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله ها نشان داد که بیشترین مقاومت به ترتیب در برابر آنتی بیوتیک های Cefixim، Cefixim، ticarcilin (100%) بوده در حالیکه بیشترین حساسیت به ترتیب در برابر آنتی بیوتیک ها polymixinB (84%)، colistin (77%) و refampin (73%) مشاهده گردید. از میان ۶۰ ایزوله ESBL مثبت ژن OXA2، ۱۱/۶ درصد و ژن OXA10، ۸/۳ درصد و ۷۳ درصد کل ایزوله ها دارای ژن ایتنگرون کلاس یک می باشند و با این تحقیق در میزان ژن بتالاکتاماز OXA10 که ۶۱ درصد بود و نیز کمترین میزان مقاومت که به ترتیب نسبت به

کولستین، توپرومایسین، آمپی سیلین سولباکتام، لوفلوکسازین، سفپیم و سفنازیدیم داشت، متفاوت بود.^{۱۷}

در مقاله ای که مصطفی قالی و همکاران در سال ۱۳۹۴ با موضوع بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن های اگزاسیلیناز OXA23 و OXA24 در جدایه های اسیتوباکتر بومانی از نمونه های تراشه بیماران بستری در ICU بیمارستان اصفهان انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های سفنازیدیم، سفتریاکسون، مروپنم و ایمپنم بوده و کمترین مقاومت نسبت به کلیستین و تایگی سیکلین است، همچنین ژن های OXA23 در ۸۷/۵ درصد و OXA24 در ۲۵ درصد جدایه ها ردیابی شد و با نتیجه این مطالعه که حضور ۹۰ درصد ژن bla OXA23 را نشان داد و کمترین مقاومت را به کلیستین داشت، تا حدود زیادی مشابهت دارد.^{۱۸}

Reyes Martin-Pena و همکاران در سال ۲۰۱۳ در دانشگاه Sevilla اسپانیا در مقاله ای با عنوان آشکارسازی سریع مقاومت آنتی بیوتیکی در اسیتوباکتر بومانی روی حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) چهار آنتی بیوتیک ایمپنم، سیپروفلوکساسین، کلیستین و آمیکاسین کار کردند که در نهایت کلیستین با ۳۹ مورد غیر مقاوم از ۴۸ مورد، حساس ترین آنتی بیوتیک در آن تحقیق شناخته شد که با تحقیق حاضر در میزان حساسیت اسیتوباکتر بومانی به آنتی بیوتیک کلیستین مشابهت دارد.^{۱۹}

عنایت اله کلانتر و همکاران در سال ۲۰۱۶ در دانشگاه علوم پزشکی البرز و در بیمارستان شهید رجایی با بررسی ژن bla OXA-51 و LPX C در اسیتوباکتر و ارتباط آن با شیوع و مقاومت چند آنتی بیوتیکی (MDR) در بیماران بستری در ICU تحقیقات انجام دادند که در نتیجه آن همه ایزوله های جدا شده اسیتو باکتر سطح بالایی از مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک هایی از قبیل: آمیکاسین، سیپروفلوکساسین، مروپنم، ایمپنم، سفتریاکسون، جنتامایسین و حساسیت به کلیستین را دارا بودند. تفاوت این مطالعه با مقاله عنایت اله کلانتر در تعداد آنتی بیوتیک ها و نوع ژن های مورد تحقیق بوده ولی در نتیجه بدست آمده که شامل حساسیت اکثر نمونه ها به کلیستین و موجود بودن ژن bla OXA-51 در همه نمونه ها بوده با هم مطابقت دارد.^{۲۰}

افزایش مقاومت به سفالوسپورین های وسیع الطیف خطر بسیار

bla oxa51 و ۹۰ درصد نمونه‌ها دارای ژن bla oxa23 و ۶۱ درصد نمونه‌ها دارای ژن bla oxa10 است. این یافته نشان دهنده انتشار ژن‌های تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز در سویه‌های مورد مطالعه است. نتایج بررسی‌ها نشان از مقاومت نسبتاً بالای نمونه‌های جدا شده به آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت داشت که می‌تواند در نتیجه کاربرد زیاد این آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت خالص یا به صورت ترکیبی جهت درمان بیماران باشد که منجر به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی این جدایه‌ها و وجود همزمان چندین ژن گردیده است که توانستند باعث مقاومت این جدایه‌ها گردند. همچنین، نتایج بررسی ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه با ژن‌های مورد نظر به صورت تفکیک شده و نیز وجود همزمان دو ژن در ۷۰ جدایه بررسی شده بیانگر تفاوت معنی‌دار نوع آنتی‌بیوتیک بر این پارامترها بود و نتیجه جالب توجه عدم جداسازی ایزوله مقاوم در تیمار آنتی‌بیوتیک کولیسیتین بود و تعداد و درصد کمی از ایزوله‌ها فاقد هر دو ژن به صورت همزمان بودند.

از آن جایی که اسیتوباکترها امروزه به عنوان یکی از باکتری‌های بیمارزا فرصت طلب در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی شناخته شده‌اند، توصیه می‌گردد توجه خاصی به شناسایی و آگاهی از حضور این باکتری در بیمارستان‌ها شود. شناسایی سایر مکانیسم‌های ایجاد کننده مقاومت در سویه‌های اسیتوباکتر، تعیین منابع عفونت در بیمارستان‌ها از طریق سایر روش‌های مولکولی و تعیین ترادف ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و مقایسه آنها با ژن‌های موجود در بانک ژنی به منظور بررسی تفاوت‌ها و تشابهات از دیگر راه کارهای موثر در پیشگیری از گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری است. با توجه به اینکه اکثر سویه‌های مقاوم به بتالاکتاماز در ایران نسبت به کولسیتین حساس می‌باشند، برای درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این سویه‌ها، استفاده از کولسیتین همراه با یک آنتی‌بیوتیک غیر بتالاکتامی و یا جهت جلوگیری از انتشار سویه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از یک بتالاکتام به همراه مهارکننده بتالاکتاماز لازم است؛ جهت جلوگیری از شیوع سویه‌های مقاوم به داروهای جدید، مصرف آنها باید کنترل شده و افراد تحت درمان باید به طور مرتب تحت بررسی قرار گیرند. توصیه می‌گردد توجه خاصی به شناسایی و آگاهی از حضور این باکتری در بیمارستان‌ها شود. بهتر است برای جلوگیری از افزایش مقاومت و

بزرگی خصوصاً برای بیماران بستری شده محسوب می‌گردد و امکان درمان با آنها را از بین برده است. لذا انتخاب صحیح آنتی‌بیوتیک‌ها، شناسایی سویه‌های مولد انواع آنزیم‌های بتالاکتامازی از سایر موارد مهم کنترل و ممانعت از انتشار سویه‌های مقاوم در بیمارستان‌ها می‌باشند. همچنین می‌توان گفت، در این باکتری مکانیسم‌های دیگری غیر از بتالاکتامازهای وسیع الطیف مانند پمپ ترشحی و تغییر در پورین‌ها نیز سبب مقاومت می‌گردند که شناسایی سریع و ردیابی این سویه‌ها نقش مهمی در جلوگیری از گسترش آنها دارد.

از ۵۵ ایزوله مقاوم به توپرومیسین، ۳۶ ایزوله (۶۵/۴۵ درصد) دارای ژن bla OXA 10 و ۴۹ ایزوله (۸۹/۰۹ درصد) دارای ژن bla OXA 23 بود و همچنین از ۶۵ ایزوله مقاوم به SAM، ۴۰ ایزوله (۶۱/۵۳ درصد) دارای ژن bla OXA 10 و ۵۹ ایزوله (۹۰/۷۶ درصد) دارای ژن bla OXA 23 است. از ۶۹ ایزوله مقاوم به لووفلوکساسین، سفپیم و سفتازیدیم، ۴۳ مورد (۶۲/۳۱ درصد) دارای ژن bla OXA 10 و ۶۲ مورد (۸۹/۸۵ درصد) دارای ژن bla OXA 23 بود. از ۷۰ ایزوله مقاوم به بقیه آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه (CFO، CTX، CRO، CP، JPM، MEN، TZ، PI، SXT) ۴۳ ایزوله (۶۱/۴۲ درصد) دارای ژن bla OXA 10 و ۶۳ ایزوله (۹۰ درصد) دارای bla OXA 23 بود. بنابراین شیوع بالای این اگزاسیلینازها در میان این ایزوله‌ها را می‌توان مسئول مقاومت به کاربام‌ها، بتالاکتام‌ها، کینولون‌ها، سولفونامیدها و آمینوگلیکوزیدهای مورد بررسی دانست. به طوری که ارتباط معنی‌داری بین حضور bla OXA 10 و bla OXA 23 و مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها به دست آمد.

مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مذکور که فقط ژن bla OXA 51 را داشته و حامل ژن‌های bla OXA 10 و bla OXA 23 نبودند، نشانگر نقش عوامل دیگری همچون عوامل کاربامپنازی و بتالاکتامازی دیگر همچون متالو-بتالاکتاماز در ژن‌های مورد بررسی و دیگر عوامل غیر آنزیمی نظیر تغییر در پروتئین‌های PBP و تغییر در ساختار و تعداد پورین‌ها و فعال شدن Efflux pump است که پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در این مطالعه نتایج نشان داد که ۱۰۰ درصد نمونه‌ها دارای ژن

شکست در درمان، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی طبق استانداردهای CLSI به طور دقیق تعیین شود. آموزش به کادر پزشکی جهت کنترل عفونت یا رعایت بهداشت و تمیز کردن بهتر وسایل مورد استفاده در بخش درمان مورد توجه قرار گیرد. تشکیل کمیته نظارتی جهت جلوگیری از تجویز تجربی آنتی‌بیوتیک توسط پزشکان به بیماران لازم و ضروری است.

سپاسگزاری

از همکاران محترم مراکز درمانی استان البرز بخصوص سرکار خانم سمیرا خزائی پول که در جمع‌آوری نمونه به بنده مساعدت نمودند، تشکر و سپاسگزاری می‌نمایم.

References

1. Jeon BC, Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Young D, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 β -lactamase in Korea. *J Clin Microbiol* 2005; 43(5):2241-224.
2. Fournier PE, Richet H, Weinstein RA. The epidemiology and control of *Acinetobacter* in health care facilities. *Clin Infect Dis* 2006; 42(5): 692-699.
3. Bouvet, P. Grimont, P. A. D. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. Nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. Nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. Nov., and *Acinetobacter junii* sp. Nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lawoffii*, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1986; 36: 228-240.
4. Baumann, P. Doudoroff, M. Stanier, R. Y. a study of the *Moraxella* group II, Oxidase negative species (genus *Acinetobacter*), *J. Bacteriol.* 1961;95: 1520-1541.
5. Dijkshoorn, L. A. Nemec, and H. Siefert. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol.* 2007; 5: 939-51.
6. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Performance standards for Antimicrobial susceptibility testing: Twenty – seven Informational supplement M100-S27. CLSI, Wayne, PA, USA, 2017.
7. Brown S, Amyes S. OXA (beta)-lactamases in *Acinetobacter*: the story so far. *J Antimicrob Chemother.* 2006 Jan; 57(1):1-3. doi: 10.1093/jac/dki425. Epub 2005 Dec 6. PMID: 16332731.
8. Fonseca, E. L., Scheidegger, E., Freitas, F. S., Cipriano, R., & Vicente, A. C. P. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: role of *carO* alleles expression and *bla OXA-23* gene. *BMC microbiology* 2013;13(1): 1-7.
9. Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SMD, Kamal MA. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi journal of biological sciences.* 2015; 22(1):90-101.
10. Poirel L, Menuteau O, Agoli N, Cattoen C, Nordmann P. Outbreak of extended-spectrum β -lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41(8): 3542-7.
11. Mansour W, Bouallegue O, Dahmen S, Boujaafar N. characterization of the resistance mechanism to beta-lactams in *Acinetobacter baumannii* strains isolated in the university hospital sahloul in tunisia (2005). *Pathologie-biologie* 2008;56(3):116-20.
12. 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. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2009;3(05):335-41.
13. Aronson, N. E., J. W. Sanders, and K. A. Moran. 2006. In harm's way: infections in deployed American military forces. *Clin. Infect. Dis.* 43:1045– 1051
14. Bahador, A. [et al]. Emergence of rifampicin, tigecycline, and colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* in Iran; spreading of MDR strain of novel International clone variants, *Microbial drug resistance* 2013; 19: 397-406.
15. Rahmani M, Amirmozafari N, Oshagi M. An investigation of the presence of oxacillinase genes (*blaOXA-51*, *bla OXA-23*, *blaOXA-58*, *bla OXA-24*) in *acinetobacterbaumannii* strains isolated from patients in Tehran Imam Khomeini Hospital and Shiraz Namazi Hospital, Iran. *Qom Univ Med Sci J.* 2015; 9(10):55-63.
16. Bahadori Azimabadi F. Karmostaji A. Evaluation of Oxacillinase Genes among Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* in Shahid Mohammadi Hospital of Bandar abbas. *zanjan Univ Med Sci J.* 2015; 9(101): 55-63.
17. Rahimzade. A-Farajniya. s-porbabaie. A- Ansarin. kh-Zolfaghari. M- masodi. N-Prevalence of OXA Type Type OXA-2, OXA-10, and Class I Integron in *Acinetobacter Bomanii* Isolated from Tabriz Patients by PCR Method *Journal of Babol University of Medical Sciences* 2012; 14(5).
18. Mostafa Ghalebi 1, Gilda Eslami 2,3, Hengameh Zandi 2,4, Armin Farhang5, Mahmood Vakili 6, Nasim Mohammadi 7, Amin Dehghan Banadkouki Survey of Antibiotic Resistance and Frequency of *blaOXA-23* and

- blaOXA-24Oxacillinase in *Acinetobacter baumannii* Isolated from Tracheal TubeSpecimens of Patients Hospitalized in Intensive Care Units in Isfahan city. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical. Sciences 2017;25(1).
19. Reyes Martín-Peña, Juan Domínguez-Herrera, Jerónimo Pachón and Michael J.McConnell. Rapid detection of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* using quantitative real-time PCR. J Antimicrob Chemother 2013; 68: 1572–1575doi:10.1093/jac/dkt057 Advance Access publication 23 February 2013.
20. Kalantar E, Madani M, Hatami A, Dehghan MH, Ebadi M, Nazari M, et al. Multiplex PCR for Detection of a Successful Pathogen; *Acinetobacter baumannii* as a Real Threat in Intensive Care Unit of a University Hospital. Clin Infect Dis. 2015; 60(9):1295-303.

Mohammad jafari¹, Mitra salehi², Parviz pakzad³

¹ M.Sc. Student of Microbiological Biology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University North Tehran Branch, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

³ Professor, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

Investigation the Relationship Between bla OXA Genes and Antibiotic Resistance of Acinetobacter Strains Isolated from Treatment Centers of Alborz Province in 2017

Received: 21 Mar 2020 ; Accepted: 12 Jun 2021

Abstract

Background and objectives: Due to the spread of infections caused by broad-spectrum beta-lactamase-producing actinobacteria in recent years in our country, this study was conducted to determine the pattern of antibiotic resistance and to determine the prevalence of bla_{oxa23} and bla_{oxa10} genes in Acinetobacter strains isolated from patients admitted to centers The treatment was taken.

Materials and Methods: Using specific culture media and biochemical tests, 75 clinical isolates of Acinetobacter were collected from patients hospitalized in Alborz province. 70 isolates were identified as Acinetobacter baumannii by biochemical and molecular methods. Disk diffusion method was used to determine the antibiotic identity of isolates according to the CLSI instruction. In this study, 14 antibiotic disks were used. Finally, polymerase chain reaction (PCR) was used to investigate the prevalence of bla_{oxa23} and bla_{oxa10} genes in antibiotic resistance using specific primers. The bla_{oxa51} gene, which is characterized by Acinetobacter Bumanni, was used to confirm the isolation of the isolates.

Results: The results showed that 100% resistance to ciprofloxacin, sulfamethoxazole, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime, imipenem, meropenem and piperacillin - tazobactam antibiotics and the least resistance to colistin (0%), tobramycin (78.5%), Ampicillin Sulbactam (92.8%), Levofloxacin, cefepime and ceftazidime, each of which was 98.5%. The results of PCR to detect strains containing resistance genes showed that the prevalence of bla_{oxa23} and bla_{oxa10} genes was 90% and 61%, respectively. The bla_{oxa51} gene, which is characterized by Acinetobacter Bumanni, was found in 100% of isolates.

Conclusion: The present study suggests that Acinetobacter Berumani bacteria is highly prevalent in patients admitted to treatment centers of Alborz province. Regarding the identification of bla_{oxa 23} and bla_{oxa10} genes in Acinetobacter and relationship its between Antibiotic resistance, it is recommended to revise the pattern of antibiotic use and the criteria for controlling infectious diseases.

Keywords: Acinetobacter, Oxacillin beta-lactamases, Antibiotic resistance

***Corresponding Author:**
M.Sc. Student of Microbiological Biology, Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University North Tehran Branch, Tehran, Iran

Tell: 09171404432
E-mail: m.jafari.1811@gmail.com