تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از نمونه های بالینی شهر اصفهان

ژینا وزیرزاده
کارشناس ارشد باکتری شناسی، بیمارستان تأمین اجتماعی شریعتی اصفهان، ایران

حسن قجاوند
کارشناس ارشد باکتری شناسی،بیمارستان تأمین اجتماعی شریعتی اصفهان، ایران

لیلا حیدری
کارشناس ارشد میکروبیولوژی،بیمارستان تأمین اجتماعی شریعتی اصفهان، ایران

پریسا بهشود
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اصفهان، ایران

نویسنده مسئول: پریسا بهشود
پست الکترونیک: Parisa_behshood@yahoo.com
تلفن : ۰۹۱۳۱۸۶۰۴۵۸
آدرس: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اصفهان، ایران

دریافت: ۹۳/٤/٤
ویرایش پایانی: ۹۳/٦/۲۰
پذیرش: ۹۳/۷/۳۰

چکیده

زمینه و هدف : *گونه های اسینتوباکتر،پاتوژن های مهم فرصت طلب و مسئول عفونت های بیمارستانی متعدد می باشند. هدف از این مطالعه، تعیین الگوی مقاومت دارویی اسینتوباکتر بومانی و بررسی شیوع گونه های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف در بیماران بخش مراقبت ویژه بیمارستان های شهر اصفهان بود.*

روش بررسی: *این مطالعه بر روی ۱۰۰ جدایه اسینتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه های بالینی انجام گرفت. جدایه ها به وسیله روش های استاندارد در آزمایشگاه میکروب شناسی تعیین هویت شدند و سپس از روش PCR برای تأیید آن ها استفاده شد. الگوی مقاومت دارویی سویه ها با روش استاندارد دیسک دیفیوژن طبق دستورالعمل CLSI بررسی شد. جهت شناسایی سویه های مولد ESBLs روش فنوتیپی دیسک ترکیبی مورد استفاده قرار گرفت.*

یافته ها : *سویه های اسینتوباکتربومانی ۱۰۰٪ MDR بودند و بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک های سفی پیم، کوتریماکسازول، سیپروفلوکساسین، مروپنم و سفتازیدیم مشاهده شد. با توجه به نتایج غربال گری اولیه، ۴/۵٪ سویه ها مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف بودند.*

نتیجه گیری: *در مطالعه حاضر سویه های تولید کنندهٔ آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف از درصد پایینی برخوردار بودند.لذا برای غربال گری اولیه سویه های مولدESBLs، روش دیسک ترکیبی و برای شناسایی و رد یابی سریع سویه ها ی حاوی ژن ESBLs، روش مولکولی Multiplex PCR توصیه می گردد که می تواند گامی مهم در درمان عفونت و ممانعت از انتشار سویه های مقاوم اسینتوباکتربومانی در بیمارستان ها بخصوص در بیماران بستری در بخش مراقبت ویژه داشته باشد.*

واژه های کلیدی: *بتالاکتاماز، اسینتوباکتربومانی، مقاومت دارویی*

آدرس مقاله
وزیرزاده ژ، قجاوند ح، حیدری ل، بهشود پ" شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از نمونه های بالینی شهر اصفهان"مجله علوم آزمایشگاهی، مرداد و شهریور۹۴، دوره نهم (شماره ۳): ۳۲-۳۹

مقدمه

گونه های *اسینتوباکتر* کوکوباسیل های گرم منفی، غیرتخمیری و هوازی بوده که به طور وسیعی در خاک و آب وجود دارند. *اسینتوباکتربومانی* شایع ترین گونه عامل عفونت های بیمارستانی مختلف نظیر: باکتریمی، عفونت مجاری ادراری و مننژیت ثانویه می باشد ولی نقش برجسته آن ایجاد پنومونی بیمارستانی به ویژه در دستگاه تنفسی فوقانی بیماران بستری شده در بخش مراقبت ویژه است(۲،۱). این باکتری توانایی زیادی برای توسعه سریع مقاومت آنتی بیوتیکی داشته که منجر به مقاومت دارویی چندگانه(MDR) Multi-Drug Resistance شده است(۳). یکی از داروهایی که در سراسر دنیا برای درمان عفونت های ناشی از *اسینتوباکتر* بکار می رود، داروهای خانواده بتالاکتام می باشند که داروهای این خانواده از طریق مهار سنتز دیواره سلولی عمل می نمایند. کاربرد بیش از حد این آنتی بیوتیک ها موجب توسعه آنزیم های بتالاکتامازی گردیده است(۴). آنزیم های بتالاکتاماز در ۴ کلاس A-D طبقه بندی می شوند، بتالاکتامازهای وسیع الطیف(ESBL$_S$) Extended Spectrum Beta lactamase ،از بتالاکتامازهای گروه A هستند که موجب هیدرولیز سفالوسپورین های نسل اول، دوم، سوم و مونوباکتام ها شده اما توسط مهارکننده های بتالاکتاماز مانند کلاولانیک اسید مهارشده و از پلاسمیدهای کد کننده خانواده SHV، TEM، OXA منشأ می گیرند(۵،۶). ژن های بسیاری از بتالاکتامازهای جدید بر روی اینتگرون ها یافت شده اند که این ژن ها می توانند در پلاسمید، کروموزوم یا ترانسپوزون جای گیرند. این عناصر از جمله فاکتورهای دخیل در توسعه مقاومت های چندگانه و انتشار عوامل مقاومت می‌باشند. در سال های اخیر خانواده های جدیدی مانند PER، VEB، CTX$_M$ نیز در سطح جهان ظاهر شده اند که اغلب پلاسمیدها مسئول انتشار آنها هستند(۷). امروزه گزارش های متعددی مبنی بر شیوع *اسینتوباکتربومانی* MDR در شهرهای ایران وجود دارد. بنابراین در مقیاس ملی مقاومت این میکروارگانیسم مهم می باشد. این مطالعه با بررسی شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) و تعیین الگوی مقاومت دارویی سویه های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از نمونه های بالینی انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی- مقطعی، ۱۰۰ جدایه *اسینتوباکتربومانی از* نمونه های بالینی مختلف شامل: کاتتر، ادرار، تراشه، زخم، خون،CSF، خلط و پریتوئن(مایع صفاقی یا داخل شکمی) از بیماران بستری در بخش مراقبت ویژه بیمارستان های اصفهان در سال ۱۳۹۲- ۱۳۹۱ جمع آوری گردید. برای جداسازی اولیه باکتری از محیط های کشت بلاد آگار(مرک، آلمان) ومکانکی آگار (مرک، آلمان) استفاده شد. نمونه ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. سپس با استفاده از کیت رنگ آمیزی گرم، وجود کوکوباسیل های گرم منفی تأیید شدند. در مرحله‌ی بعد نمونه های اکسید از منفی با استفاده از تست های بیوشیمیایی مانند IMVIC (مرک، آلمان) ، اوره آز(مرک، آلمان)، TSI(مرک، آلمان)، OF حاوی گلوکز (مرک، آلمان) و رشد در دمای ۴۲-۴۴ درجه سانتی گراد بررسی شده، به این ترتیب جدایه ها به وسیله این آزمایش ها تأیید فنوتیپی قطعی شدند(۱). برای نگهداری جدایه ها از محیط BHI Broth (مرک، آلمان) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد استفاده شد. پس از آزمایش های فنوتیپی، همه سویه های جداسازی شده از نمونه های بالینی، برای تأیید ژنتیکی ژن OXA-51 Like با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

برای این منظور DNA باکتری با استفاده از کیت استخراج DNA (Fermentas,Lithuania) استخراج گردید. غلظت DNA و خلوص آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر(اپندرف،آلمان) مورد تأیید قرار گرفت. برنامه زمانی و مقدار مواد استفاده PCR نیز مطابق با دستورالعمل آزمایش Brown و همکاران در سال ۲۰۰۴ مورد استفاده قرار گرفت(۸). در این آزمایش جفت پرایمر:

F: 5'-TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG-3' و R: 5'-CTT CG TGG ATT CGA CTT CAT -3'جهت تکثیر ژن OXA-51 Like بکار برده شد(۸). برای تهیه ۲۵ µl مستر میکس واکنش PCR ،از DNA۲µl استخراج شده، ۱ µl پرایمر (۱۰ pmol/ml پرایمر تکاپوزیست،ایران)، ۰/۳µl (Taq ۵۰۰U DNA polymerase)، ۵µl (۲۰۰ mM dNTP، ۲/۵ µl (بافر X

PCR۱۰) و ۱µl (MgCl2۱/۵ mM)، که همگی از شرکت (سیناژن،ایران) تهیه شده بودند، استفاده شد.حجم باقیمانده با آب مقطر استریل دیونیزه کامل گردید. برنامه PCRبا استفاده دستگاهDNA Thermal Cycler (اپندرف،آلمان) به صورت زیر انجام شد:

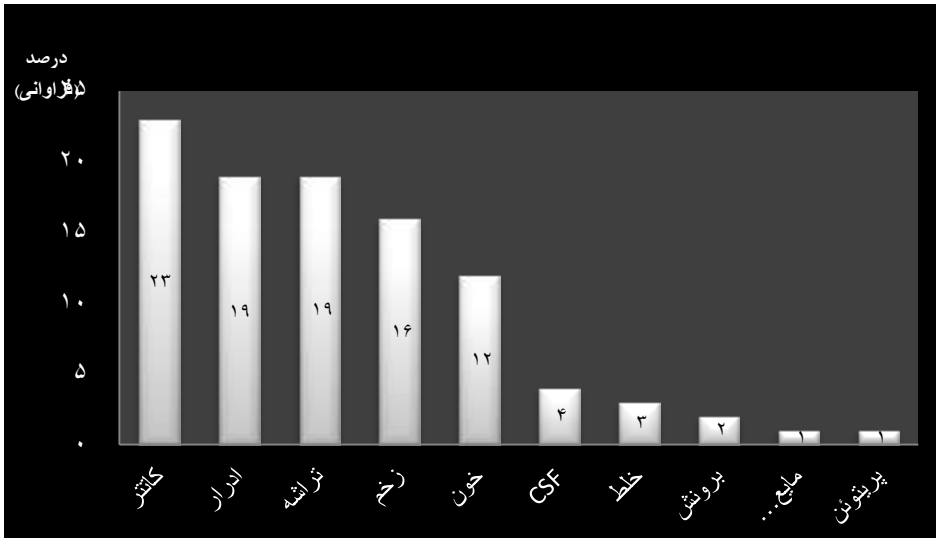
مرحله ی واسرشت شدن اولیه (Initial Denaturation) به مدت ۵ دقیقه در دمای^{0}C ۹۴ صورت گرفت، مرحله ی واسرشت شدن (Denaturation) به مدت ۲۵ ثانیه در دمای ^{0}C ۹۴، مرحله ی چسبیدن (Annealing) به مدت۴۰ ثانیه در دمای ^{0}C۵۳، مرحله تکثیر(Extension) به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ^{0}C ۷۲، ۳۰ سیکل تکرار گردیدند و مرحله ی تکثیر نهایی (Final Extension) به مدت۶ دقیقه دردمای ^{0}C ۷۲ انجام گردید. برای تجزیه و تحلیل محصولات PCR از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ و رنگ آمیزی توسط DNA green viewer و تجسم در زیر نور ماورای بنفش استفاده شد(۹۸). از سویه (ATCC 19606 *اسینتوباکتر بومانی)* به عنوان کنترل مثبت و از (ATCC 27853 *سودوموناس آئروژوینوزا*) به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. جهت تعیین فنوتیپی مقاومت دارویی سویه های تأیید شده، از روش دیسک دیفوژن (کربی بائر) طبق دستورالعمل CLSI استفاده گردید(۹).در این مطالعه ۹ دیسک آنتی بیوتیکی مختلف از شرکت ROSCO دانمارک مورد استفاده قرار گرفت که شامل: سفی پیم (۳۰µg)، آمیکاسین (۳۰µg)، مروپنم (۱۰µg)، سیپروفلوکساسین(۵µg)، کوتریماکسازو ل (تری متوپریم سولفامتاکسازول) (۲۳/۷۵µg و ۱/۲۵ µg) ، ایمی پنم (۱۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، تتراسیکلین (۳۰µg)، آمپی سیلین سولباکتام (۱۰µgو ۱۰۰ µg) بود. بدین منظور از کشت ۲۴ ساعته باکتری، کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند (۱/۵× ۱۰^8 cfu/ml) تهیه شد و در روی پلیت مولر هینتون آگار به صورت جارویی تلقیح شد. سپس دیسک‌های آنتی بیوتیکی با رعایت تکنیک‌های آسپتیک در سطح پلیت قرار داده شدند. ازسویه استاندارد (*اشرشیاکلی* ATCC 25922) به عنوان کنترل منفی و از سویه‌ی استاندارد (*اسینتوباکتربومانی* ATCC 19606) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته ، قطر هاله ی عدم رشد باکتری ها اندازه‌گیری و پس از مقایسه با جداول مرجع ارائه شده توسط CLSI مقاومت یا حساسیت باکتری ها نسبت به هر آنتی‌بیوتیک تعیین شد. جدایه های*اسینتوباکتربومانی* که به سه یا بیش از سه رده آنتی بیوتیکی مقاومت نشان دادند به عنوان سویه های MDR در نظر گرفته شدند. جهت بررسی بتالاکتامازهای وسیع الطیف از روش Combined Disk Test (دیسک ترکیبی) مطابق با دستورالعمل CLSI استفاده شد(۹) و باکتری های مقاوم به نماینده سفالوسپورین ها، با استفاده از دیسک های سفتازیدیم(۳۰µg)،سفتازیدیم+کلاولانیک اسید(۳۰µg-۱۰) وسفوتاکسیم(۳۰µg)، سفوتاکسیم + کلاولانیک اسید(۳۰µg-۱۰) تهیه شده از شرکت MAST انگلستان مورد مطالعه قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، مشاهده افزایش بیش از ۵ میلیمتر در قطر هاله هر کدام از آنتی بیوتیک های فوق در ترکیب با کلاولانیک اسید نسبت به آنتی بیوتیک تنها، میکروارگانیسم تولید کننده ESBL و در غیر این صورت میکروارگانیسم ESBL منفی در نظر گرفته شدند(۹).

یافته ها

در این تحـقیق تمام ۱۰۰ جدایه *اسینتوباکتربومانی جداشده از نمونه های بالینی*، با تکنیک PCR برای ژن OXA_51 like تأیید شدند. نتیجه PCR برای ژن OXA_51 like را نشان می دهد. در پژوهش حاضر میانگین سنی افراد مبتلا به عفونت ناشی از *اسینتوباکتر*۶۰ سال و۳۲ درصد از افراد زن و ۶۸ درصد از افراد را مرد تشکیل دادند. درصد توزیع جدایه های اسینتوباکتر بومانی در نمونه های بالینی به ترتیب: کاتتر(۲۳٪)، تراشه(۱۹٪)، ادرار(۱۹٪)، زخم (۱۶٪)، خون(۱۲٪)، CSF(۴٪)، خلط(۳٪)، برونش (۲٪)، مایع مغزی نخاعی(۱٪)، پریتوئن(۱٪) بود. در این تحقیق بیشترین درصد فراوانی جدایه های *اسینتوباکتربومانی* مربوط به نمونه های کاتتر(۲۳٪)، تراشه و ادرار(۱۹٪)بود. الگوی مقاومت دارویی جـدایه ها مشـخص نمود که از ۱۰۰ سویه *اسینتوباکتربومانی* مورد بررسی، (۹۸٪) جدایه ها به سفی پیم و (۹۲٪) به سفتازیدیم مقاومت نشان دادند که از میان آن ها توسـط Combined Disk Test، ۴ جـدایه *اسینتوباکتربومانی*

(۴/۵٪) به عنوان مولد آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف تأیید گردید. همچنین نتایج بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها نشان داد که ۱۰۰٪ جدایه ها نسبت به سه یا بیش از سه آنتی بیوتیک مقاوم بودند (MDR) ، همچنین الگوی مقاومت ضد میکروبی سویه ها نسبت به کار با پنم ها (ایمی پنم و مروپنم) (۹۶٪)، به سیپروفلوکساسین(۹۸٪)،به آمپی سیلین سولباکتام(۹۳٪)، به تتراسیکلین(۸۸٪) و به آمیکاسین(۶۲٪) بود (جدول ۱).

شکل ۲- درصد توزیع جدایه های *اسینتوباکتر بومانی* در نمونه های بالینی



جدول۱- الگوی مقاومت دارویی ایزوله های *اسینتوباکتر بومانی* در نمونه های بالینی

آنتی بیوتیک ها	٪مقاوم (تعداد)	٪ نیمه حساس(تعداد)	٪حساس (تعداد)
سفی پیم	۹۸(۹۸)	۲ (۲)	۰ (۰)
کوتریماکسازول	۹۸(۹۸)	۰ (۰)	۲(۲)
سیپروفلوکساسین	۹۸(۹۸)	۱ (۱)	۱ (۱)
مروپنم	۹۶ (۹۶)	۳ (۳)	۱ (۱)
ایمی پنم	۹۶ (۹۶)	۳ (۳)	۱ (۱)
آمپی سیلین سولباکتام	۹۳ (۹۳)	۱ (۱)	۶ (۶)
سفتازیدیم	۹۲ (۹۲)	۶ (۶)	۲ (۲)
تتراسایکلین	۸۸ (۸۸)	۵ (۵)	۷ (۷)
آمیکاسین	۶۲(۶۲)	۱۷ (۱۷)	۲۱ (۲۱)

بحث

اسینتوباکتربومانی، پاتوژن فرصت طلب با قدرت بیماریزایی بالا و از عوامل رایج عفونت های بیمارستانی است. این باکتری به علت مقاومت ذاتی می تواند مدت زمان زیادی در محیط بیمارستان زنده بماند. به علت پیدایش سویه های مقاوم به چند دارو در بخش مراقبت ویژه، *اسینتوباکتربومانی* به عنوان یکی از عوامل دخیل در مرگ و میر در بیماران محسوب می شود(۱،۲). از آن جایی که تشخیص فنوتیپی *اسینتوباکتربومانی* ممکن است موجب اشتباه با کوکوباسیل هایی مانند: *نایسریا ها* یا *موراکسلاها* شود، امروزه از آزمایش PCR ژن OXA_51 like، برای تشخیص قطعی سویه *اسینتوباکتربومانی* استفاده می شود.ژن OXA-51 Like یک گروه آنزیمی است که به طور ذاتی در سویه های *اسینتوباکتربومانی* وجود دارد(۸) که در این تحقیق تمام سویه های تشخیص داده شده با روش فنوتیپی با شناسایی OXA-51 Like تأیید شدند. غزنوی راد و همکاران نیز درسال ۲۰۱۳ در شهر تهران، برای تأیید سویه های *اسینتوباکتر*جداشده به روش فنوتیپی، از ردیابی ژن OXA-51 Like استفاده کردند(۱۰). نجار پیرایه و همکاران در سال ۲۰۱۲ در تهران PCR برای ژن OXA-51 Like *اسینتوباکتربومانی* انجام دادند که از ۱۳۱ جدایه *اسینتوباکتر* تشخیص داده شده با روش فنوتیپی،۱۲۳ جدایه (۹۳/۸۹) *اسینتوباکتربومانی* جدا کردند که این تحقیق نشان دهنده اهمیت ردیابی ژن OXA_51 like برای تشخیص قطعی سویه *اسینتوباکتربومانی* می باشد(۱۱). سن، جنس ،شغل، نژاد، سابقه بستری، وضعیت ایمونولوژیک و بیماری های زمینه ای از فاکتورهای مؤثر در عفونت با *اسینتوباکتر* می باشند (۱۲). در پژوهش حاضر میانگین سنی افراد مبتلا به عفونت ناشی از *اسینتوباکتر*۶۰ سال و ۳۲ درصد از افراد زن و ۶۸ درصد از افراد را مرد تشکیل دادند که عفونت در مردان بیشتر از زنان دیده شد. جنس، *اسینتوباکتر*مخصوصا گونه *بومانی* آن رایج ترین عامل باکتریمی است که بیشتر درافراد میانسال و نوزادان دیده می شود. مطالعه Tsakris و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان داد که میانگین سنی بیماران دچار عفونت با *اسینتوباکتربومانی* ۶۸ سال است (۱۳). در مطالعهAydemi و همکاران درسال ۲۰۱۲ نشان داده شده که میانگین سنی ۱۱۰ بیمار مبتلا به عفونت ناشی از *اسینتوباکتربومانی* ۶۴ سال بود، که از این میان ۵۱٪ از بیماران مرد و ۴۹ درصد زن بودند که نشان می دهد پژوهش ما با مطالعات قبلی کاملاً تطابق دارد(۱۴). در این تحقیق بیشترین درصد فراوانی جدایه های *اسینتوباکتربومانی* مربوط به نمونه های کاتتر(۲۳٪)، تراشه و ادرار (۱۹٪) بود. در تحقیق Martins و همکاران در سال ۲۰۰۸ درصد جدایه های *اسینتوباکتربومانی* جداشده از نمونه های کلنیکی به ترتیب کاتتر (۷۳/۵۸٪) ، خون (۱۶/۹۸٪)، ادرار (۳/۷۷٪) و دیگر نمونه های بالینی (۵/۶۶٪) بود(۱۵). علاوه بر این تحقیق، Mammina و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که از ۳۶ جدایه *اسینتوباکتربومانی* جدا شده از نمونه های بالینی ۲۶ مورد (۷۲/۲٪) ناشی از عفونت با کاتتر بوده است که این مطالعات نشان می دهد بیشترین درصد فراوانی جدایه های *اسینتوباکتربومانی* ناشی از کاتتر است و با مطالعه ما تطابق دارد(۱۶). امروزه به علت افزایش قابل ملاحظه انواع مقاومت دارویی و غیرفعال سازی طیف وسیعی از آنتی بیوتیک های بتالاکتام توسط سویه های مقاوم و MDR *اسینتوباکتربومانی*، مشکلات فراوانی در درمان بیماران بوجود آمده است(۵). لذا این مطالعه با هدف تعیین فراوانی سویه های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف و مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه های *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از نمونه های بالینی انجام گرفت. در مطالعه و بررسی آماری حاضر، سویه های *اسینتوباکتربومانی* ۱۰۰درصد MDR بودند. بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی به سفی پیم، کوتریماکسازول ، سیپروفلوکساسین، ایمی پنم و سفتازیدیم و کمترین میزان مقاومت به آمیکاسین دیده شد. طبق مطالعه ای که در سال ۱۳۹۱ توسط میرنژاد بر روی ۱۰۰ گونه‌ی *اسینتوباکتر* انجام گرفت ۷۰ درصد سویه ها MDR بودند و بیشترین مقاومت به ترتیب به سفی پیم، سفتریاکسیون، آمیکاسین و ایمی پنم بود که تا حدودی با پژوهش ما همخوانی داشت(۱۷). در مطالعه وفایی و همکاران در سال۱۳۸۷مقاومت به ایمی پنم ۱۳درصد گزارش گردید(۱۸) در حالی که در مطالعه Szejbach و همکاران در سال ۲۰۱۳ میزان درصد مقاومت به ایمی پنم و مروپنم بالا گزارش گردید که با پژوهش ما همخوانی داشت

(۱۹). در مطالعه ما غربال گری سویه های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف، در میان سویه های مقاوم به نماینده‌ی نسل سوم سفالوسپورین ها، ۴/۵ درصد به عنوان مولد ESBLs شناخته شدند. در تحقیق هاشمی زاده و همکاران، میزان تولید آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف ۴۴ درصد گزارش گردید که نتایج تحقیق ما درمورد غربالگری سویه های مولد ESBLs نسبت به تحقیق فوق کمتر بود(۱۸). در سال ۲۰۱۰ Jazani و همکاران سویه های *اسینتوباکتربومانی* مولد ESBL را ۲ درصد گزارش نمودند که نتایج این مطالعه با پژوهش ما تطابق داشت(۲۰). همچنین در مطالعه وفایی و همکاران، ۲۰ درصد سویه ها ESBL مثبت بودند و ۱۹درصد از آن ها حاوی ژن مقاومت $bla_{CTX-M-II}$ بوده اند که این بررسی نشان دهنده دقت روش شناسایی فنوتیپی سویه های مولد ESBLs با روش دیسک ترکیبی است. مطالعه فوق نشان می دهد نتایج روش دیسک ترکیبی که از روش های مورد تأیید CLSI برای شناسایی سویه های تولید کننده بتالاکتاماز با طیف گسترده می باشد با نتایج حاصل تکنیک PCR همخوانی دارد(۱۷،۹).

نتیجه گیری

اسینتوباکتربومانی ایجاد کننده‌ی عفونت های MDR در ایران در حال گسترش می باشد. مقاومت بالای دارویی در سویه های جدایه شده، با توجه به پایین بودن درصد سویه های تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف، می تواند ناشی از سایر مکانیسم های ایجاد کننده مقاومت باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از جناب آقای دکتر ناصرالماسی، مسئول محترم آزمایشگاه بیمارستان شریعتی اصفهان که در انجام این تحقیق همکاری صمیمانه ای داشتند، تشکر و قدردانی می شود.

References

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

2. Gaynes R, Edwards JR, National Nosocomial Infections Surveillance. *System Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli*. Clin Infect Dis. 2005; 41(6): 848-54.

3. Bassetti M, Righi E, Esposito S, Petrosillo N, Nicolini L. *Drug treatment for multidrug-resistant Acinetobacter baumannii Infections*. Future Microbiol. 2008; 3(6): 649-60.

4. Bush K, Jacoby GA. *Updated functional classification of beta-lactamases*. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54(3): 969-76.

5. Jacoby GA, Munoz-Price LS. *The New beta-lactamases*. N Engl J Med. 2005; 352(4): 380-391.

6. Gniadkowski M. *Evolution and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases(ESBLs) and ESBLs-producing microorganism*. Clin Microbiol Infect. 2001; 7(11): 597-608.

7. Vila J, Ribera A. *Type 1 integrons in epidemiologically unrelated Acinetobacter baumannii isolates collected at spanish hospitals, american society for microbiology*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2004; 48(1): 364-365.

8. Brown S, Young HK, Amyes SGB. *Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of Acinetobacter baumannii from Argentina*. Clin Microbiol Infect. 2005; 11(1):15-23.

9. Clinical Laboraory Standards Institute (CLSI). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*: twentieth informational supplement: M100-S20. Wayne, PA, USA, Clinical laboratory Standard Institute, 2012; 17-48.

10. Taheri N, Abtahi H, Amozande-Nobaveh A, Zarinfar N, Ghaznavi-Rad E. *The Antibiotic Resistant Determinant of Pathogenic Bacteria Isolated from Medical Equipment and Hospital Environment in Valiasr Hospital, Arak. 2013*. J Mazandaran Univ Med Sci. 2014; 24(114): 60-73.[Persian]

11. Karmostaji A, Najar Peerayeh SH, Hatef Salmanian A. *Distribution of OXA-Type Class D β-Lactamase Genes Among Nosocomial Multi Drug Resistant Acinetobacterbaumannii Isolated in Tehran Hospitals*. Jundishapur J Microbiol. 2013; 6(5): e8219.

12. Flanders SA, Collard H R, Saint S. *Nosocomial pneumonia: state of the science*. Am J Infect control. 2008; 34(2): 84-93.

13. Tsakris A, Ikonomidis A, Poulou A, Spankis N, Vrizas D, Diomidous M, et al. *Clusters of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii clones producing different carbapenemases in an intensive care unit*. Clin Microbiol Infect. 2008; 14(6): 588-94.

14. Aydemir H, Celebi G, Piskin,N, Oztoprak N, Keskin AS, Aktas E, et al. *Mortality attributable to carbapenem-resistant nosocomial Acinetobacter baumannii infections in a Turkish university hospital*. Jpn J Infect Dis. 2012; 65(1): 66-71

15. Martins AF, Kuchenbecker R, Sukiennik T, Boff R, Reiter KC, Lutz L,et al. *Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii Producing the OXA-23 enzyme: dissemination in Southern Brazil*. Infection. 2009; 37(5): 474- 6.

16. Mammina C, Palma D M, Bonura C, Aleo A, Fasciana T, Sodano C, et al. *Epidemiology and clonality of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii from an*

intensive care unit in Palermo, Italy. BMC Research Notes. 2012; 5: 365-373.

17. Vafaei S, Mirnejad R, Amirmozafari N. *Determining the Patterns of Antimicrobial Susceptibility and the Distribution of blaCTX-M Genes in Strains of Acinetobacter Baumannii Isolated from Clinical Samples*. J Isfahan Med Sch. 2013; 31(252): 1443-51 [Persian].

18. Hashemizadeh Z, zargani A, Emami A, Rahimi M. *Acinetobacter antibiotic resistance and frequency of ESBL-producing strains in ICU patients of Namazi Hospital (2008-2009).* The Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 2010; 14 (2): 47-53.[Persian]

19. Szejbach A, Mikucka A, Bogiel T, Gospodarek E. *Usefulness of phenotypic and genotypic methods for metallo-beta-lactamases detection in carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii strains*. Med Sci Monit Basic Res. 2013; 19: 32-6.

20. Jazani NH, 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*. Inte J Microbiol. 2011; 9(2): 1-7.

Prevalence of Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs) and Antibiotic Resistance Pattern Acinetobacter Baumannii Strains Isolated from Clinical Specimens in Isfahan City, Iran

Vazirzadeh, J. (MSc)
MSc of Bacteriology, Shariati Welfare Organization Hospital, Isfahan, Iran

Ghajavand, H. (MSc)
MSc of Bacteriology, Shariati Wellfare Organization Hospital Isfahan, Iran

Behshood, P. (MSc)
MSc Department of Microbiology, Young Researchers and Elite Club, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Heidari, L. (MSc)
MSc of Microbiology, Shariati Wellfare Organization Hospital Isfahan, Iran

Corresponding Author: Behshood, P.

Email: Parisa_behshood@yahoo.com

Received: 25 Jun 2014
Revised: 11 Sep 2014
Accepted: 22 Oct 2014

Abstract

Background and Objective: *Acinetobacter* species are opportunistic important pathogens responsible for many nosocomial infections. The purpose of this study was to determine the drug resistan pattern *Acinetobacter baumannii* and prevalence of ESBL producing strains in Intensive Care Unit patients in Isfahan city hospitals.

Material and Methods: The study was conducted on 100 *Acinetobacter baumannii* strains isolated from clinical samples. The Isolates were identified by standard methods and confirmed by PCR method. Drug resistance pattern of isolates was determined by standard disk diffusion method according to CLSI. To identify ESBL producing strains, a Combined Disk phenotypic method was used.

Results: Hundred percent of *Acinetobacter baumannii* strains was MDR and the maximum antibiotics resistance was shown to cefepime, co–trimoxazole, ciprofloxacin, meropenem and ceftazidime. According to initial screening, 4.5% of strains were producing Extended Spectrum Beta Lactamase enzyme.

Conclusion: The percent of ESBLs producing strains is low. Thus, Combined Disk for initial screening of ESBLs strains and multiplex PCR for rapid detection of ESBLs strains are recommended. This issue can be a new step in preventing from the spread of Acinetobacter Baumannii Strains in hospitals particularly in intensive care unit.

Keywords: Beta-Lactamases; Acinetobacter Baumannii; Drug Resistance

This paper should be cited as: Vazirzadeh J, Ghajavand H, Heidari L, Behshood P. [Prevalence of Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs) and Antibiotic Resistance Pattern Acinetobacter Baumannii Strains Isolated from Clinical Specimens in Isfahan City, Iran] mljgoums. 2015; 9(3):32-39 [Article in Persian]