Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.14, No.1, Spring 2014, Pages 28-36

Antibiotic Susceptibility and Molecular Typing by REP-PCR among *Acinetobacter baumannii* Isolates

Rezaee D[1]; Zarrini G*[1]; Ahangarzadeh Rezaee M[2]

[1]Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz. Tabriz, Iran
[2]Tabriz Research Center of Infectious and Tropical Diseases, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

* Corresponding Author. Tel: +984113392707 Fax: +984113356027 E-mail: zarrini@tabrizu.ac.ir

Received: 11 Sep 2013 Accepted: 15 Jan 2014

ABSTRACT

Background & Objectives*: Acinetobacter baumannii* is an opportunistic Gram-negative pathogen with increasing relevance in a variety of hospital-acquired infections especially among intensive care unit patients. *A. baumannii* is mostly a cause of septicemia, pneumonia and urinary tract infection following hospitalization of patients. In this study antibiotic susceptibility pattern of *A.baumannii* isolates and molecular typing among isolates resistant by REP-PCR were determined.

Methods*:* During study, the *A. baumannii,* were isolated from hospitals in Tehran. The isolates were identified using standard biochemical tests and antibiotic susceptibility was determined by the disk diffusion method. Extraction of DNA and molecular typing of isolates performed using CTAB method and REP-PCR, respectively.

Results: In this study 75 *A. baumannii* isolates separated from patients with an average age of 51 ± 18.45 years. The highest resistance rate was against azteronam (97%), ceftazidim (93%), cefepime (93%), piperacillin-tazobactam (93%), ciprofloxacin (93%) and ticarcillin (93%) while the lowest resistance rate was against tigecycline (n= 51, 68%), followed by tobramycin (n=24, 32%), ampicillin-sulbactam (n=21, 28%), amikacin (n=16, 21%), and carbapenems (n=11, 15%). The REP-PCR in resistant of *A. baumannii* isolates showed that the genotypes of A, B and C are the predominant genotypes in the resistant antibiotics.

Conclusion: This study showed a high percentage of resistance to antimicrobial agents among genotypes A, B, and C of the *A. baumannii* isolates; therefore strategies to control the spread of *A. baumannii* isolates must be designed and evaluated.

Key words*: Acinetobacter baumannii*; Antibiotic Resistance; molecular Typing; REP-PCR

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

حساسیت آنتی‌بیوتیکی و تیپ‌بندی مولکولی بوسیله‌ی REP-PCR در جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی*

دلسوز رضایی[۱]، غلامرضا زرینی[۱*]، محمد آهنگرزاده رضایی[۲]

[۱]، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران [۲] مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

*نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۱۱۳۳۹۲۷۰۷ فاکس: ۰۴۱۱۳۳۵۶۰۲۷ پست الکترونیک: zarrini@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: *آسینتوباکتر بومانی*[1] پاتوژنی گرم منفی است که ارتباط نزدیکی با انواعی از عفونت‌های بیمارستانی ایجاد شده بویژه در بیماران بخش مراقبت‌های ویژه دارد. این باکتری عمدتا عامل سپتی‌سمی، نومونی و عفونت ادراری بیماران بستری شده در بیمارستان می‌باشد. در این مطالعه حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی* و الگوی تیپ‌بندی مولکولی بوسیله‌ی PCR توالی های تکراری پالیندرومیک خارج ژنی (REP-PCR) در میان جدایه‌های مقاوم تعیین گردید.

روش کار: در طول این مطالعه جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی* جدا شده از بیمارستان‌های تهران مورد مطالعه قرار گرفت. جدایه‌ها با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی استاندارد شناسایی و حساسیت گونه‌ها به آنتی بیوتیک‌های مختلف، با روش دیسک دیفیوژن تعیین گردید. استخراج DNA با روش CTAB و تیپ‌بندی مولکولی جدایه‌ها با روش REP-PCR انجام گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه از ۷۵ *آسینتوباکتر بومانی* جدا شده از بیماران با میانگین سنی ۱۸/۴۵±۵۱ سال بیشترین مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آزترونام (۹۷٪)، سفتازیدیم (۹۳٪)، سفپیم (۹۳٪)، تیکارسیلین (۹۳٪)، سیپروفلوکساسین (۹۳٪) وپیپراسیلین -تازوباکتام (۹۳٪) بوده در حالی که کمترین مقاومت به ترتیب در برابر آنتی‌بیوتیک‌های تایجیسایکلین (۶۸٪)، توبرامایسین (۳۲٪)، آمپی‌سیلین-سولباکتام (۲۸٪)، آمیکاسین (۲۱٪) و کارباپنم‌ها (۱۵٪) بود. REP-PCR نشان داد شایعترین ژنوتیپ‌ها میان آنتی‌بیوتیک‌های مقاوم، A, B و C بودند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان دهنده‌ی مقاومت بالا به عوامل ضدمیکروبی بخصوص در ژنوتیپ‌های A, B و Cجدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی* می‌باشد. بنابراین استراتژی‌هایی برای کنترل گسترش سویه‌های مقاوم باید طراحی و ارزیابی شود.

کلمات کلیدی: *آسینتوباکتر بومانی*؛ مقاومت آنتی‌بیوتیک؛ تیپ‌بندی مولکولی؛ REP-PCR

دریافت: ۹۲/۶/۲۰ پذیرش: ۹۲/۱۰/۲۵

مقدمه

آسینتوباکتر بومانی باکتری گرم منفی بصورت کوکسی یا کوکوباسیل می‌باشد که قدرت تخمیر ندارد [۱, ۲]. این باکتری نیازمندی‌های غذایی کمی برای رشد داشته و می‌تواند در شرایط نامساعد، سطوح خشک و همچنین محیط آبی بمدت طولانی زنده بمانند [۳]. *آسینتوباکتر بومانی* به ندرت عامل عفونت‌های سخت در افراد با سطح ایمنی طبیعی می‌باشد، همچنین کمتر بعنوان فلور طبیعی بدن شخص سالم شناخته شده است.اما عفونت این باکتری بویژه در بیمارانی که در بخش های مراقبت ویژه بیمارستان‌ها بستری هستند، بسیار خطرناک می‌باشد [٤]. این باکتری باعث طیف وسیعی از عفونت‌ها بویژه عفونت‌های دستگاه ادراری، مننژیت، باکتریمی، عفونت زخم، عفونت پوست و بافت نرم و عفونت‌های دستگاه تنفس می‌شود [۱, ۲, ۵]. *آسینتوباکتربومانی* به عوامل ضدمیکروبی بسیار مقاوم است که این مقاومت می‌تواند ذاتی و یا از طریق بدست آوردن عوامل ژنتیکی مقاومت باشد. به طوری که این باکتری توانایی مقاومت

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

قابل توجهی در برابر کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی را داراست که منجر به مقاومت چند دارویی در آن شده است. امروزه *آسینتوباکتربومانی* به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها شامل آمینوگلیکوزیدها، کارباپنم‌ها، سفالوسپورین‌ها و بتالاکتام‌ها مقاومت نشان می‌دهد [٤, ٦, ٧]. به منظور شناسایی منبع عفونت، گسترش و شیوع جدایه‌ها در جمعیت‌های میکروبی و کنترل عامل عفونی، آن‌ها را تیپ بندی می‌کنند. وجود ژنوتیپ‌های مختلف در میان جدایه‌های باکتری در یک مکان نشان دهنده‌ی انتقال آن باکتری از مکان‌های دیگر بوده که این موضوع در اهمیّت و شیوع پاتوژن و درمان صحیح برای جلوگیری از گسترش عامل پاتوژن بسیار مهم می‌باشد. روش‌های زیادی برای تیپ‌بندی مولکولی وجود دارد از روش-های ژنوتیپی که درتیپ‌بندی *آسینتوباکتر بومانی* استفاده می‌شود می‌توان پالس فیلد ژل الکتروفورزیس[1]، ریبوتایپینگ[2]، DNA پلی‌مورف تکثیر یافته تصادفی[3]، پلی‌مورفیسم طول قطعات تکثیر شده[4] و PCR توالی های تکراری پالیندرومیک خارج ژنی (REP-PCR) [5] را نام برد. بر اساس گزارشی که توسط Liu و همکارانش منتشر گردید، نشان داده شد که اگرچه تعیین ژنوتیپ *آسینتوباکتربومانی* با PFGE، به عنوان روش استاندارد و طلایی در نظر گرفته شده ولی زمان‌بر، پیچیده و هزینه‌بر است با این حال REP-PCR یک روش ساده، سریع و ارزانتر است که برای مطالعه‌ی شیوع کلون‌های مختلف *A. baumannii* استفاده می‌شود. تحقیقی در کشور اسپانیا نیز نشان داد که REP-PCR برای مطالعه‌ی شیوع کلون‌های مختلف *A. baumannii* بسیار مناسب است [۸،۹].

REP-PCR روشی مبتنی بر PCR-Fingerprinting است. در این تکنیک از پرایمرهای consensus برای توالی‌های REP موجود در کروموزوم بسیاری از باکتری‌ها، استفاده می‌شود. در *آسینتوباکتربومانی* نواحی REP، توالی‌های حفاظت شده و شامل ۳۵ نوکلئوتید با تکرارهای معکوس‌اند که می‌توانند کپی-های تکی یا چندتایی در ژنوم باکتری داشته باشند [۱, ۱۰-۱۲].

روش کار

جامعه مورد مطالعه و نمونه‌ها:

در این مطالعه که از نوع توصیفی-تحلیلی است جدایه‌های *آسینتوباکتر* در فواصل زمانی اردیبهشت سال۹۱ تا مهر همان سال از نمونه‌های بالینی(شامل، سوختگی، خون، ادرار، زخم، خلط و نای) بیماران بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان‌های تهران جدا گردید. مطالعه‌ی انجام گرفته در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه تبریز و آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام گرفت.

روش‌های آزمایشگاهی: از نمونه‌های بالینی جدا شده از بیماران لام رنگ آمیزی گرم تهیه شده و روی محیط‌های کشت بلاد آگار و مک‌کانگی آگار کشت داده شد. سپس برای تعیین هویت، کوکوباسیل‌های گرم منفی و لاکتوز منفی رشد یافته روی محیط کشت مک‌کانکی آگار که دارای تست اکسیداز منفی باشند، به محیط‌های افتراقی از جمله سیمون سیترات، کلیگلر و TSI تلقیح شدند. پس از ٢٤ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد، کلنی-های مشکوک به *آسینتوباکتر بومانی* با کمک تست-های OF و رشد در دمای ٤٤ درجه از سایر گونه‌ها متمایز می‌شدند.

تعیین حساسیت به آنتی بیوتیک‌ها: حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها با روش انتشار از دیسک (روش Kirby-Bauer) طبق توصیه دستورالعمل مؤسسه‌ی استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی(CLSI) نسبت به

[1] Plused-Field Gel Electrophoresis (PFGE)
[2] Ribotyping
[3] Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD)
[4] Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)
[5] Repetitive Extragenic Palindromic PCR

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین-سولباکتام (۱۰/۱۰µg/ml)، پیپراسیلین-تازوباکتام (۱۰۰/۱۰µg/ml)، آزترونام (۳۰µg/ml)، تیکارسیلین (۳۰µg/ml)، سفتازیدیم (۳۰µg/ml)، سفپیم (۳۰µg/ml)، تایجی‌سایکلین (۳۰µg/ml)، توبرامایسین (۱۰µg/ml)، آمیکاسین (۳۰µg/ml)، ایمی‌پنم (۱۰µg/ml) و مروپنم (۱۰µg/ml) (MAST, Merseyside, UK)تعیین گردید. ازکلنی‌های باکتری، با لوله‌ی نیم مک‌فارلند، سوسپانسیون تهیه شد و پس از آغشته کردن سواپ استریل با سوسپانسیون بخوبی بر روی محیط مولرهنیتون آگار پخش گردید سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک به فاصله‌ی استاندارد از همدیگر قرار داده شدند. بعد از ۲٤ ساعت انکوباسیون در حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد قطر هاله‌ی رشد پس از ۳ بار تکرار برای هر آنتی‌بیوتیک اندازه‌گیری گردید[۱۳]. دیسک‌ها از شرکت Liofilichem ایتالیا تهیه شده بود. از سویه‌ی استاندارد *آسینتوباکتر بومانی* ATCC 19606 به عنوان شاهد استفاده شد.

استخراج DNA: استخراج DNA جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی* با روش CTAB[1] انجام گرفت. ابتدا: یک لوپ پر از باکتری را در ۳۰۰µL آب مقطر ریخته و ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰ppm قرار داده، ۲۷۰µL از بافر TE[2] و ۳۰µL از ۱۰٪ SDS[3] و ۸µL از پروتئیناز K را اضافه و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت قرار داده شد. به هر نمونه ۱۰۰µLاز NaCl (5mM) و ۸۰µL از ۱۰% CTAB اضافه و بعد مخلوط و در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد برای ۱۰ دقیقه انکوبه، به هر نمونه ۷۰۰µL کلروفرم اضافه و در سانتریفیوژ با دور ۱۱۰۰۰ برای ۱۰ دقیقه قرار داده شد. فاز مایع رویی را جدا و ٤۰۰µL ایزوپروپانول اضافه و در ۲۰- درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت انکوبه کرده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۱۰۰۰ رسوب دادیم. با اتانول ۷۰٪ (۳۰۰µL)، DNA را شستشو و با دور ۷۰۰۰ یا ۸۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوز و بعد الکل را دور ریخته و به هر نمونه ۵۰µL از بافر TE اضافه و در ۳۷ درجه سانتیگراد برای ۲۰ دقیقه قرار دادیم [۱٤].

تایپینگ جدایه‌ها با روش REP-PCR:

استخراج DNA جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی* با روش CTAB انجام گرفت[۱٤]. واکنش REP-PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت که شامل ۲/۵ میکرولیتر از بافر 10X، ۲۰۰ میکرومولار از هر کدام از dATP, dGTP, dCTA و dTTA، ۰/۵ میکرولیتر $MgCL_2$ (۳میلی مولار)، ۲۵ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای REP_1 و REP_2، ۲ واحد آنزیمی (۰/۵ میکرولیتر) از آنزیم Taq DNA Polymerase، ۳ میکرولیتر از DNA استخراج شده از جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی* و ۱۶/۱ میکرولیتر آب مقطر انجام شد. برنامه دستگاه ترموسایکر برای واکنش REP-PCR شامل دناتوراسیون اولیه (initial denaturation) در ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه وسیکل اصلی ۳۵ بار تکرار شامل دناتوراسیون (denaturation) در ۹٤ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها (annealing) به مدت ۱ دقیقه در ۵۷ درجه سانتیگراد، تکثیر (extension) به مدت ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد و تکثیر نهایی (final extension) یک سیکل به مدت ۱۶ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد بود. در روش REP-PCR، جفت پرایمر REP_1 5′-III GCGCCGICATCAGGC-3 و REP_2 5-ACGTCTTATCAGGCCTAC-3، برای تکثیر عناصر REP در کروموزوم‌های ژنوم باکتری‌ها استفاده شد[۹]. حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی *آسینتوباکتر بومانی* نسبت به آنتی‌بیوتیک-های مورد مطالعه با توجه به اعداد به دست آمده و مقایسه آن با دستورالعمل مؤسسه‌ی استانداردهای

[1] Cetyltrimethyl Ammonium Bromide (CTAB)
[2] Tris-EDTA buffer
[3] Sodium dodecyl sulfate (SDS)

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

آزمایشگاهی و بالینی(CLSI)، تعیین گردید. ارزیابی و تجزیه و تحلیل با استفاده از نرم افزار SPSS version 16 انجام گردید. آنالیز آماری داده‌ها با محاسبه‌ی توزیع فراوانی داده‌ها، میانگین توزیع نرمال و مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون Chi Square انجام گردید.

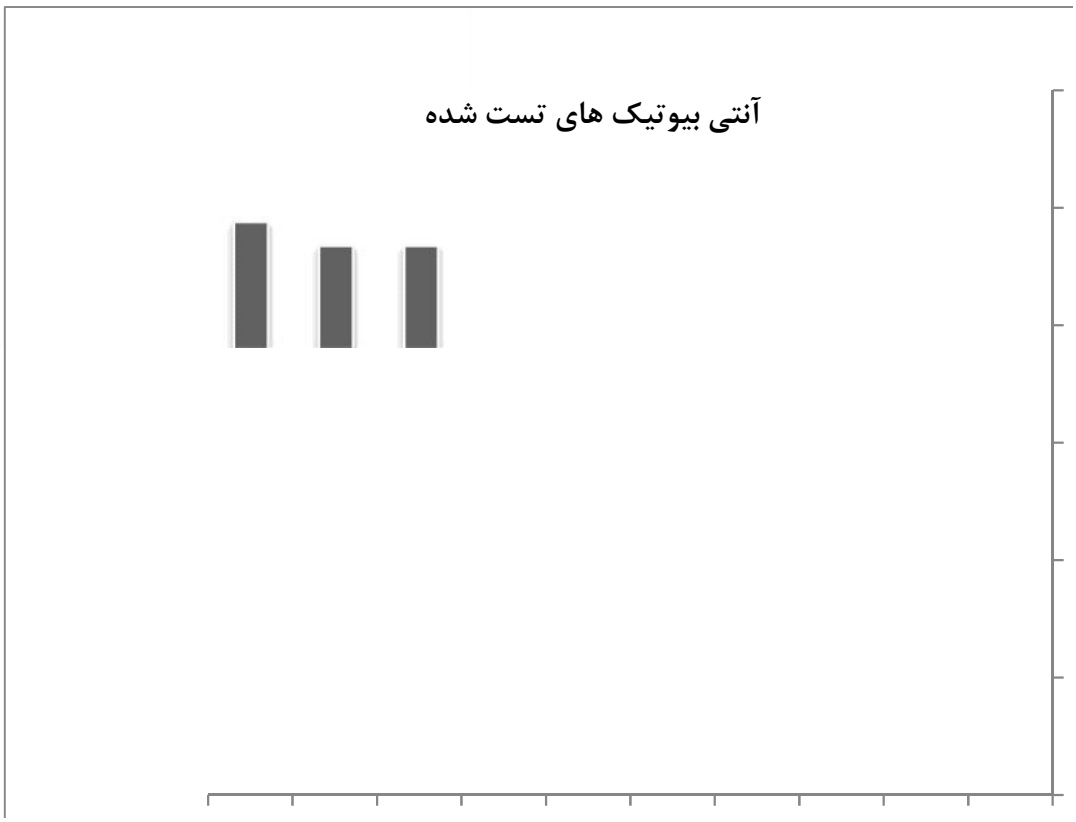
یافته‌ها

در طول ۶ ماه (اردیبهشت تا مهر ماه سال ۱۳۹۱) از بیماران بخش مراقبت‌های ویژه و از نمونه‌های مختلف بیمارستان‌های تهران ۷۵ جدایه‌ی *آسینتوباکتر بومانی*جمع‌آوری شد. در این تحقیق ۷۵ جدایه‌ای که بعنوان *آسینتوباکتر بومانی* مشخص گردیدند، الگوی بیوشیمیایی یکسانی داشتند. خصوصیات بیوشیمیایی آنها شامل کوکوباسیل‌های گرم منفی، واکنش آلکالین/ آلکالین در محیط TSI، اکسیداز منفی، غیر متحرک، کاتالاز مثبت، سیترات مثبت و تولید اسید از گلوکز در محیط OF را داشته که در دو دمای ۳۷ و ٤٤ درجه سانتیگراد به خوبی رشد کردند. بیشترین جدایه‌ها از بخش سوختگی (۵۷/۳٪) بودند. تعداد ٥٤ (۷۲٪) مورد از جدایه‌ها، از مردان و ۲۱ (۲۸٪) مورد از زنان با محدوده سنی ١٤ تا ۸۶ سال با میانگین سنی ۱۸/٤٥±٥١ سال جدا شدند که در جدول ۱ توزیع فراوانی جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی*بر حسب نوع نمونه‌ی بالینی آورده شده است.

جدول ۱. توزیع فراوانی جدایه‌های آسینتوباکتر بومانی بر حسب نوع نمونه‌ی بالینی

نوع نمونه	تعداد	درصد
تراشه	۱۸	۲٤
ادرار	۸	۱۱
خون	۱	۱
خلط	٤	۵
سوختگی	٤۳	۵۷/۳
زخم	۱	۱

در این مطالعه جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی* مقاومت بالایی را به آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده نشان دادند. نمودار ۲ حساسیت آنتی‌میکروبی جدایه



نمودار ۱. توزیع فراوانی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی*

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

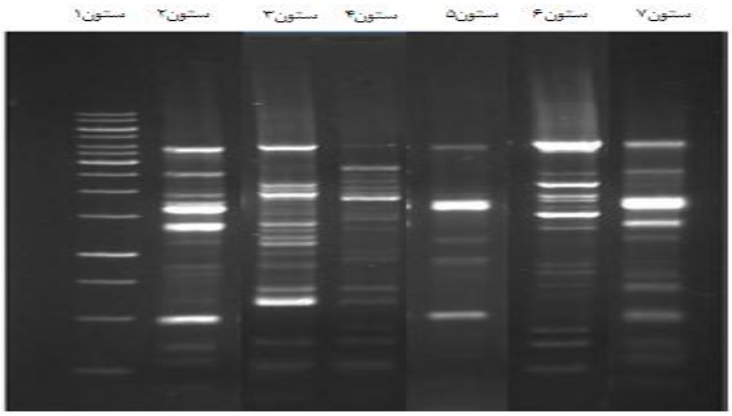
های *آسینتوباکتر بومانی* را با دیسک‌های آنتی‌بیوتیک نشان می‌دهد.

REP-PCR:

دسته‌بندی و تیپ‌بندی مولکولی بوسیله‌ی REP-PCR نشان داد که جدایه‌های مقاوم به ۶ کلاستر مشخص اصلی (n=۱۲) A، (n=۱۹) B، (n=۱۸) C، (n=۹) D، (n=۶) E و (n=۷) F تعلق دارند. شکل ۱ الگوهای REP-PCR موجود در ایزوله‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. شایعترین ژنوتیپ‌های مشاهده شده به آنتی‌بیوتیک‌های مقاوم مطالعه شده، ژنوتیپ‌های A, B و C بودند. توزیع و فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه میان کلون مختلف جدا شده در جدول ۲ آورده شده است. بین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های تست شده و قرارگیری آنها در کلون‌های موجود ارتباط معناداری وجود ندارد.

بحث

الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی در بین باکتری‌های پاتوژن بیمارستانی ممکن است از یک کشور به کشور دیگر و یا در مناطق مختلف یک کشور متفاوت باشد. مطالعات قبلی نشان می‌دهند که درمان خط مقدم برای عفونت های ناشی از *آسینتوباکتربومانی* شامل آمیکاسین، کاربا‌پنم ها ، سفتازیدیم و کوئینولون-هاست [۱۵, ۱۶]. این مطالعه نشان داد که مقاومت آنتی‌بیوتیکی *آسینتوباکتربومانی* در سویه‌های جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان‌های تهران بالا می‌باشد. نتایج بررسی



شکل ۱. الگویREP-PCR در میان ایزوله‌های *A. baumannii* ستون ۱: سایز مارکر 1kbp؛ ستون ۲: ژنوتیپ A؛ ستون ۳: ژنوتیپ B؛ ستون ٤: ژنوتیپ C؛ ستون ۵: ژنوتیپ D؛ ستون ۶: ژنوتیپ E؛ ستون ۷: ژنوتیپ F.

جدول ۲. مقایسه ی حساسیت آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه میان کلون‌های موجود در جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی*

REP-type (تعداد)	سفتازیدیم (تعداد)	سفپیم (تعداد)	پیپراسیلین-تازوباکتام (تعداد)	تیکارسیلین (تعداد)	آزترونام (تعداد)	آمپی سیلین سولباکتام (تعداد)	آمیکاسین (تعداد)	تایجسایکلین (تعداد)	تورامایسین (تعداد)	ایمی پنم (تعداد)	مروپنوم (تعداد)
A (n=۱۲)	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۰	۳	۸	۱۰	۱۰
B (n=۱۹)	۱۹	۱۹	۱۹	۱۹	۱۹	۱۹	۱۶	۷	۱۵	۱۶	۱۶
C (n=۱۸)	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸	۱۹	۱۵	۹	۱۷	۱۸	۱۸
D (n=۹)	۹	۹	۹	۹	۹	۹	۶	۰	۳	۶	۶
E (n=۶)	۶	۶	۶	۶	۶	۶	٤	۰	۲	٤	٤
F (n=۷)	۷	۷	۷	۷	۷	۷	۳	۰	۱	٤	٤

نتایج حاصل نشان می‌دهد بین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های تست شده و قرارگیری آن ها در کلون‌های موجود ارتباط معناداری وجود ندارد.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها در مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آزترونام (۹۷٪)، سفتازیدیم (۹۳٪)، سفپیم (۹۳٪)، تیکارسیلین (۹۳٪)، سیپروفلوکساسین (۹۳٪) و پیپراسیلین-تازوباکتام (۹۳٪) بوده در حالی که بیشترین حساسیت به ترتیب در برابر آنتی‌بیوتیک-های تایجیسایکلین (۶۸٪)، توبرامایسین (۳۲٪)، آمپی‌سیلین-سولباکتام (۲۸٪)، آمیکاسین (۲۱٪) و کارباپنم‌ها (۱۵٪) مشاهده گردید. در یک بررسی در کاشان از ۶۰ سویه‌ی *آسینتوباکتر بومانی* به ترتیب بیشترین مقاومت به آمیکاسین (٤۸٪)، توبرامایسین (٤۱٪)، سفتازیدیم (۳۶٪)، پیپراسیلین-تازوباکتام (۳۱٪)، ایمی‌پنم (۱۵٪) و آمپی‌سیلین-سولباکتام (۱۲٪) نشان دادند[۱۷]. در مطالعه‌ای در اصفهان الگوی ضدمیکروبی سویه‌های *آسینتوباکتر بومانی* نشان داد که ۵۲٪ سویه‌ها به کارباپنم‌ها، ۶۶٪ به سفتازیدیم، ۶٤٪ به آمیکاسین و ٥٤٪ به پیپراسیلین-تازوباکتام مقاوم بودند. در مطالعه‌ای که Hujer و همکارانش روی ۷۵ سویه‌ی *آسینتوباکتر بومانی* جدا شده از بیماران نظامی و غیر نظامی جنگ عراق و افغانستان انجام دادند حداقل ۸۰٪ از جدایه‌ها نسبت به سفالوسپورین‌های با طیف وسیع، ٤۹٪ به آمپی-سیلین-سولباکتام، ۲۰٪ به ایمی‌پنم و ۸۱٪ حداقل به یکی از آمینوگلیکوزیدها مقاوم بودند [۱۸]. در مطالعه‌ای که توسط Wang و همکاران در سال ۲۰۰۳ بر روی اپیدمی های ناشی از *آسینتوباکتر بومانی* مقاوم به دارو در بخش ICU انجام گرفت مشخص گردید که تمام سویه‌ها به آزترونام، آمیکاسین، آمپی‌سیلین- سولباکتام، سفتازیدیم، سفپیم، سیپروفلوکساسین، ایمی پنم، مروپنم، پیپراسیلین- تازوباکتام و تیکارسیلین– کلاولانیک اسید مقاوم بودند [۱۹].

تفاوت در یافته‌ها ممکن است ناشی از تنوع در نمونه‌های بالینی مورد بررسی، زمان انجام مطالعه و استراتژی‌های درمان در هر منطقه‌ی جغرافیایی باشد. همان‌طور که در الگوهای REP-PCR نشان داده شد (جدول ۳) شایعترین ژنوتیپ‌های مشاهده شده در آنتی‌بیوتیک‌های مقاوم، ژنوتیپ‌های A, B و C بودند که نشان می‌دهد آن‌ها از منبع مشترکی منشأ گرفته‌اند. در مطالعه‌ای که درکرمانشاه انجام گرفت تقریبا مشابه با نتایج مطالعه حاضر بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفپیم و سفپودکسیم میان ژنوتیپ‌های A و B قرار داشتند [۲۰].

در نتایج مطالعه حاضر، بین مقاومت به آنتی‌بیوتیک-های تست شده و قرارگیری آنها در کلون‌های موجود ارتباط معناداری وجود نداشت. هدف از تیپ‌بندی مولکولی با REP-PCR وجود مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در کلون‌های مختلف بوده است که وجود ۶ نوع کلون مختلف در میان جدایه‌های مقاوم احتمالا ناشی از انتشار کلونی و ایجاد تیپ‌های مختلف مقاوم در میان سویه‌های *آسینتوباکتر بومانی* بوده است. با توجه به مشاهده‌ی مقاومت بالا در میان سویه‌های *آسینتوباکتر بومانی* تجزیه و تحلیل REP-PCR برای تشخیص سویه‌های رایج در بخش‌های مختلف، پیشگیری از گسترش بیشتر از آن‌ها به محیط بیمارستان‌ها و مکان‌های دیگر و درمان مناسب این پاتوژن بیمارستانی بسیار ارزشمند می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با مقایسه ی نتایج حاصل از این تحقیق و مطالعات مشابه می‌توان به شیوع بالای عفونت‌های بیمارستانی ناشی از *آسینتوباکتر بومانی* که مقاومت بالایی داشته پی برد. با توجه به الگوهای ژنوتیپی مختلف در میان جدایه‌های *آسینتوباکتر بومانی* که دارای ۶ ژنوتیپ بودند، به نظر می رسد که انتشار کلونی و گسترش سویه‌های مقاوم وجود دارد.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

References

1- Bergogne-Berezin E, Towner K. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev. 1996 Apr; 9(2): 148.

2- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. 2008 Apr; 21(3): 538-582.

3- Baumann P. Isolation of *Acinetobacter* from soil and water. J Bacteriol. 1968 July; 96(1): 39-42.

4- Boroumand M, Akhyani H, Sheikhvatan M, Yazdi SH, Saboorian R, Hashemi S, et al. Evaluation of antimicrobial resistance of *acinetobacter baumannii* to imipenem, ciporofloxacin and ceftazidime using E test. Iranian J Public Health. 2009 Apr; 38(2): 130-133.

5- Mak JK, Kim MJ, Pham J, Tapsall J, White PA. Antibiotic resistance determinants in nosocomial strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother. 2009 Nov; 63(1): 47-54.

6- Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species. Antimicrob Agents Chemother. 1993 Apr; 37(4): 750-753.

7- Shi ZY, Liu PYF, Lau YJ, Lin YH, Hu BS, Shir JM. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Diagn Microbiol Infect Dis. 1996 Feb; 24(2): 81-85.

8- Liu P Y , Wu WL. Use of different PCR-based DNA fingerprinting techniques and pulsed-field gel electrophoresis to investigate the epidemiology of *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex. Diagn Microbiol Infect Dis. 1997 Sep; 29(1): 19-28.

9- Bou G, Cervero G, Dominguez M, Quereda C, Martínez-Beltrán J. PCR-based DNA fingerprinting (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem-and meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. Clin Microbiol Infect. 2000 Sep; 6(12): 635-643.

10- Koeleman JG, Stoof J, Biesmans DJ, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM. Comparison of amplified ribosomal DNA restriction analysis, random amplified polymorphic DNA analysis, and amplified fragment length polymorphism fingerprinting for identification of *acinetobacter* genomic species and typing of *acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol. 1998 Sep; 36(9): 2522-2529.

11- Koeleman JG, Stoof J, Van Der Bijl MW, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Identification of epidemic strains of *acinetobacter baumannii* by integrase gene PCR. J Clin Microbiol. 2001 Jan; 39(1): 8-13.

12- Dijkshoorn L, Aucken H, Gerner-Smidt P, Janssen P, Kaufmann M, Garaizar J, et al. Comparison of outbreak and nonoutbreak *Acinetobacter baumannii* strains by genotypic and phenotypic methods. J Clin Microbiol. 1996 Jun; 34(6): 1519-1525.

13- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 19th informational supplement (M100-S19). Wayne, PA: CLSI; 2011.

14- Green MR, Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd ed. New York. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012: 87-90.

15- Prashanth K, Badrinath S. In vitro susceptibility pattern of *Acinetobacter* species to commonly used cephalosporins, quinolones, and aminoglycosides. Indian J Med Microbiol. 2004 Jun; 22(2): 97.

16- Van Looveren M, Goossens H. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. Clin Microbiol Infect. 2004 Aug; 10(8): 684-704.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]

17- Farahani Kheltabadi R, Moniri R, Shajari GR, Shirazi N, Hossein M, Musavi SGA, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and the distribution of resistance genes among *Acinetobacter* species isolated from patients in shahid Beheshti hospital, Kashan. KAUMS J (FEYZ). 2009 Jan; 12(4): 61-67. (Full text in Peersian)

18- Shaw K, Rather P, Hare R, Miller G. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev. 1993 Mar; 57(1): 138.

19- Wang S, Sheng W, Chang Y, Wang L, Lin H, Chen M, et al. Healthcare-associated outbreak due to pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in a surgical intensive care unit. J Hosp Infect. 2003 Feb; 53(2): 97-102.

20- Mohajeri P, Farahani A, Feizabadi MM, Davoodabadi A, Noroozi B. The prevalence of ESBL isolates of *acinetobacter baumannii* using pulsed-field gel electrophoresis. Zahedan J Res Med Sci. 2013 Sep; 15(7): 29-33.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-10]