

فراوانی بتالاکتامازهای وسیع الطیف در اسینتوباکتر بومانی با استفاده از روشهای فنوتیپی و ژنوتیپی

صفر فرج نیا¹، نصراله سهرابی^{2*}، محمد تقی اخی³، محمد رضا نهائی⁴، امیر پیمانی⁵، زهره امیری⁶

1. دکترای بیوتکنولوژی، دانشیار مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
2. دکترای باکتری شناسی، استادیار گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
3. دکترای میکروب شناسی، دانشیار گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
4. دکترای میکروب شناسی، استادیار گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز
5. دکترای باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
6. دانشجوی دکترای بیوتکنولوژی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران و گروه زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه رازی کرمانشاه

* نشانی برای مکاتبه: کرمانشاه، بلوار دولت آباد، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی، na.sohrabi@yahoo.com
دریافت مقاله: بهمن نود و یک پذیرش برای چاپ: فروردین نود و دو

چکیده

سابقه و هدف: مهم ترین عامل مقاومت به آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام در اسینتوباکتر بومانی، تولید آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBL) است و PER-1 یکی از شایع ترین این آنزیم ها است. در این مطالعه، فراوانی این آنزیم با استفاده از روش های فنوتیپی و ژنوتیپی بررسی شد.

روش کار: تعداد 100 ایزوله اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز، با استفاده از روش های میکروب شناسی و بررسی وجود ژن OXA-51 شناسائی شدند. وجود آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBL)، با استفاده از تست غربالی و تستهای تاییدی (DDST) و Combined Disk Test (CDT) بررسی شدند. وجود ژن PER-1 با استفاده از آزمون PCR بررسی شد. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 16 و آزمون مربع کای تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: همه 100 ایزوله اسینتوباکتر بومانی دارای ژن OXA-51 بودند و تشخیص در سطح گونه تایید شد. با استفاده از تست DDST (53%)، تست CDT (64%) و با استفاده از هر دو تست 70% ایزوله ها از نظر تولید ESBL مثبت بودند. 72/8% ایزوله های فنوتیپی مثبت دارای ژن PER-1 بودند. با استفاده از روش های CDT و DDST به ترتیب 96/6% و 64/7% از ایزوله های حاوی ژن PER-1 بودند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان دهنده شیوع بالای بتالاکتامازهای وسیع الطیف در ایزوله های اسینتوباکتر بومانی و مناسب تر بودن روش CDT در شناسائی ایزوله های تولید کننده ی این آنزیم ها است.

واژگان کلیدی: اسینتوباکتر بومانی، بتالاکتامازهای وسیع الطیف، عفونتهای بیمارستانی

مقدمه

بنابر این، این باکتری از بخشهایی مانند ICU، جراحی و سوختگی بیشتر جدا می شود (1,2). یکی از خصوصیات خاص اسینتوباکتر بومانی علاوه بر مقاومت ذاتی در مقابل شرایط محیطی، توانائی 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 ناشی از آن از مشکلات عمده جامعه پزشکی در دنیا می باشد. مقاومت در این باکتری یا ذاتی است و یا از طریق عوامل ژنتیکی متحرک از باکتری های دیگر کسب می شود.

اسینتوباکتر بومانی (Acinetobacter baumannii)، یک کوکوباسیل گرم منفی غیر تخمیر کننده و از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی است. این باکتری عامل عفونت های مهمی چون باکتری، پنومونی، مننژیت ثانویه، عفونت دستگاه ادراری و عفونت های سوختگی است. افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی، بیماران تحت شیمی درمانی، بیماران با سوختگی شدید و بیمارانی که تحت روش های درمانی تهاجمی هستند، در خطر ابتلا به عفونت های شدید ناشی از این باکتری هستند.

شرکت MAST) با آزمون دیسک آگار دیفیوژن به روش کربی بوئر (Kirby-bauer) تعیین شد. بر اساس معیارهای CLSI قطر هاله عدم رشد مساوی یا بیشتر از 27 میلی متر برای سفوتاکسیم (30 µg) و آزترونام (30 µg) ، مساوی یا بیشتر از 22 میلی متر برای سفنازیدیم (µg) 30) ، مساوی یا بیشتر از 25 میلی متر برای سفتریاکسون (30 µg) و مساوی یا بیشتر از 17 میلی متر برای سفپودوکسیم (10µg) ، به منزله مقاوم بودن باکتری به این آنتی بیوتیک ها است. در این تست مقاومت به حداقل یکی از آنتی بیوتیک های مزبور را تحت عنوان تست غربالی مثبت ESBL جهت ایزوله های اسینتوباکتر بومانی در نظر می گیریم (13). در مرحله بعد، ایزوله های غربالی مثبت با استفاده از روش های فنوتیپی تاییدی مانند Combined Disk Test (CDT) و Double Disk Synergy Test (DDST) بررسی شدند.

در روش Combined Disk Test (CDT) (روش استاندارد CLSI پس از تهیه سوسپانسیون معادل 5/1 مک فارلند و کشت بر روی محیط مولر هینتون ، دیسک های سفوتاکسیم / سفوتاکسیم + اسید کلاولانیک و سفنازیدیم / سفنازیدیم + اسید کلاولانیک با فاصله مناسب از هم بر روی محیط مولر هینتون آگار قرار داده شده و پس از 18 ساعت ، قطر هاله عدم رشد اندازه گیری می شود که اگر هاله عدم رشد در دیسک های ترکیبی حاوی اسید کلاولانیک نسبت به حالت بدون اسید کلاولانیک ، 5 میلی متر یا بیشتر افزایش هاله عدم رشد نشان داد، به معنای مثبت شدن این تست و تایید تولید ESBL است (13).

در روش Double Disk Synergy Test (DDST) پس از کشت باکتری بر روی محیط مولر هینتون آگار ، دیسک ترکیبی آموکسی سیلین + اسید کلاولانیک (آگمنتین ، ساخت شرکت MAST) را در مرکز پلیت گذاشته و در اطراف آن دیسک های سفوتاکسیم، سفنازیدیم، سفپیم و آزترونام را در چهار جهت در فواصل 10 ، 20 ، 30 میلی متری از دیسک مرکزی قرار می دهیم . سپس پلیت را به مدت 18 ساعت در دمای 37 درجه قرار داده و نتایج را بررسی می کنیم. افزایش هاله حساسیت و امتداد این هاله به طرف دیسک مرکزی (آموکسی سیلین + اسید کلاولانیک) ، به عنوان مثبت شدن تست و تایید نهایی تولید ESBL در نظر گرفته می شود (14).

در تمام آزمایش ها از ایزوله استاندارد اشریشیاکلی ATCC 25922 به عنوان کنترل منفی و از ایزوله استاندارد کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

برای تکثیر ژن های OXA-51 و PER-1 به روش PCR ، DNA Mastermix مورد استفاده در PCR شامل dNTP ، MgCl₂ ، بافر x ، Taq DNA Polymerase ، پرایمر ژنهای OXA-51 و PER-1 و نمونه DNA ایزوله های اسینتوباکتر بومانی بود. توالی پرایمر های مورد استفاده در جدول شماره 1 آمده است. واکنش PCR در دستگاه ترمال سایکلر (Eppendorf) به صورت: دناتوراسیون اولیه (Initial denaturation) در 95 درجه سانتیگراد به مدت 5 دقیقه، سپس سیکل اصلی 30 بار تکرار شامل: مرحله دناتوراسیون (Denaturation) در 94 سانتی گراد به مدت یک دقیقه ، مرحله اتصال (Annealing) (برای ژن OXA-51 در 50 درجه سانتی گراد و برای ژن PER-1 در 51 درجه سانتی گراد هر کدام به مدت 1 دقیقه) ، مرحله تکثیر (Extension) یک دقیقه در 50 درجه سانتی گراد و نهایتا تکثیر نهایی (Final extension) (یک سیکل به مدت ده دقیقه در 72 درجه سانتی گراد انجام شد.

از آنتی بیوتیک های مورد استفاده در درمان عفونت های ناشی از ایزوله های اسینتوباکتر بومانی ، آنتی بیوتیک های خانواده بتالاتکام مانند پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها و کرباپنم ها هستند که در سال های اخیر این باکتری نسبت به اکثریت این آنتی بیوتیک ها مقاوم شده است (3،4). مکانیسم های مختلفی در ایجاد مقاومت ایزوله های اسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاتکام دخالت دارند که تولید آنزیم های بتالاتکماز توسط این باکتری ، از مهم ترین عوامل ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها است (6،8). بتالاتکمازها به روش های مختلفی طبقه بندی شده اند که یکی از این روش ها، طبقه بندی مولکولی Ambler است. اساس طبقه بندی در این روش تشابه ساختمان پروتئینی آنزیم است و بتالاتکمازها به چهار کلاس اصلی (A تا D) تقسیم می شوند (7). بتالاتکمازهای وسیع الطیف (β-Extended Spectrum ESBLs - Lactamases) ، دسته ای از بتالاتکمازهای گروه A هستند که می توانند موجب هیدرولیز پنی سیلین ها ، سفالوسپورین های نسل اول ، دوم و سوم و مومونوباکتام شده اما توسط اسید کلاولانیک مهار می شوند (8). بتالاتکماز وسیع الطیف تیپ PER-1 که در سال 1993 برای اولین بار شناسایی شد، از شایع ترین تیپ های ESBL در اسینتوباکتر بومانی است (9). بالاترین شیوع این ژن از کشورهایمانند ترکیه ، کره جنوبی و چین گزارش شده است (10-12). برای شناسایی ایزوله های تولید کننده ESBL از روش های فنوتیپی مانند Combined Disk Synergy Test (DDST) و Double Disk Synergy Test (DDST) و ژنوتیپی مانند PCR استفاده می شود (13،14).

با توجه به شیوع بالای ژن PER-1 در کشور همسایه ما ترکیه و عدم وجود مطالعه ای در خصوص میزان شیوع این ژن در این منطقه و همچنین لزوم آگاهی از علل مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاتکام ، در این مطالعه با استفاده از روش های فنوتیپی و ژنوتیپی به تعیین میزان شیوع ژن PER-1 در ایزوله های اسینتوباکتر بومانی پرداخته ایم.

روش کار

در این مطالعه توصیفی - مقطعی تعداد 100 ایزوله های اسینتوباکتر بومانی از نمونه های مختلف بالینی شامل تراشه، خون، خلط، زخم مایع پلور، مایع آسیت و مایع نخاع بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز جمع آوری شد و پس از انتقال به آزمایشگاه گروه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی بر روی محیط های مکانیکی و بلاد آگار تلقیح گردید و پس از رشد در دمای 37 به مدت 24-48 ، رنگ آمیزی گرم انجام و کوکسی و کوکوباسیل های گرم منفی از نظر تست اکسیداز بررسی شد. نمونه های اکسیداز منفی با استفاده از تست های بیوشیمیایی مانند تست سیترات، تست حرکت ، تست (OF (Oxidation Fermentation) و رشد در دمای 44-42 بررسی شدند (1). تعیین هویت قطعی با استفاده از آزمون PCR و شناسایی ژن OXA-51 انجام شد (15). نمونه هایی که فاقد این ژن بودند از مطالعه، حذف شدند.

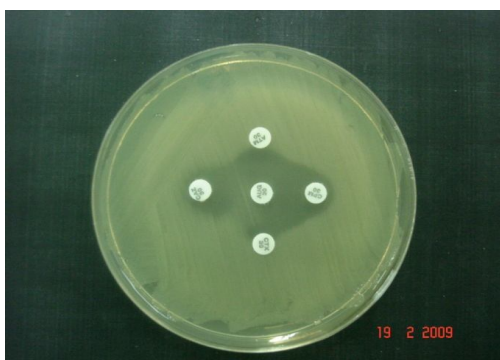
برای غربال کردن تولید ESBL سوسپانسیونی از باکتری معادل 5/1 مک فارلند تهیه و در محیط مولر هینتون آگار تلقیح شد. سپس ارگانسیم های تولید کننده ESBL بر طبق اصول (Clinical Laboratory Standard Institute) با استفاده از آنتی بیوتیک های پیشنهادی غربال شدند. به این ترتیب که حساسیت ایزوله ها نسبت به پنج آنتی بیوتیک سفتریاکسون (30 µg) ، سفنازیدیم (30 µg) ، سفوتاکسیم (30 µg) ، سفپودوکسیم (10µg) و آزترونام (30 µg)

ژنهای OXA-51 و PER-1 به ترتیب از سویه های استاندارد اسینتوباکتر بومانتی NCTC 12516 و سودوموناس آئروژینوزا استفاده شد. نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه 16 و آزمون مربع کای تجزیه و تحلیل شد. P value کمتر از 0/5 به عنوان دامنه معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

جهت بررسی محصولات PCR در ژل آگاروز 1% با ولتاژ 90 به مدت 60 دقیقه الکتروفورز شده و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید به مدت 15 دقیقه ، در دستگاه Gel Document باندهای مربوطه مشاهده و عکس برداری شد. جهت تعیین اندازه محصولات PCR از سایز مارکر 1Kb DNA (ساخت شرکت Fermentase) استفاده شد. برای کنترل مثبت

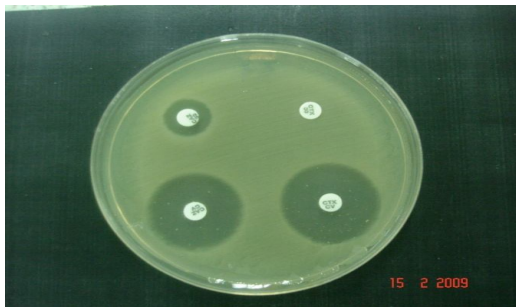
جدول شماره 1. توالی پرابر های مورد استفاده در شناسایی ژنهای OXA-51 و PER-1 (16.17)

اندازه باند	توالی نوکلئوتیدی	پرابر
640 bp	5'ACAAGCGCTATTTTATTTTCAG 3' 5'CCCATCCCCAACCACTTTT 3'	OXA-51-F OXA-51-R
925 bp	5'ATGAATGTCATTATAAAAGC 3' 5'AATTTGGGCTTAGGGCAGAA 3'	PER-1-F PER-1-R



شکل 1: شناسایی ایزوله های اسینتوباکتر بومئی تولید کننده ESBL با استفاده از روش DDST

در تست تاییدی CDT ، 64 مورد (64%) ایزوله ها مثبت بودند که در 70/4% این موارد (45/6) ، نتایج هر دو تست ترکیبی (سفتواکسیم/سفتواکسیم+ اسید کلاولانیک و سفتازیدیم/سفتازیدیم + اسید کلاولانیک) یک سان بود. 15/6% موارد (10/6) با استفاده از تست ترکیبی سفتواکسیم/سفتواکسیم+ اسید کلاولانیک و 14% موارد (9/6) ، با استفاده از تست ترکیبی سفتازیدیم و سفتازیدیم + اسید کلاولانیک مثبت شدند. بطور کلی با استفاده از هر دو تستهای تاییدی CDT و DDST ، 70 ایزوله اسینتوباکتر بومانتی (70%) تولید کننده ESBL بودند.



شکل 2: شناسایی ایزوله های اسینتوباکتر بومئی تولید کننده ESBL با استفاده از روش CDT

یافته ها

در این مطالعه توصیفی مقطعی از آذر ماه سال 1387 تا آذر ماه 1388 تعداد 100 نمونه بالینی شامل خون ،ادرار ،ترشحات لوله تراشه ، مایع نخاع و سایر موارد از بیماران بستری در بیمارستان امام رضا (ع) تبریز جدا شد که از این تعداد 100 ایزوله اسینتوباکتر بومانتی با استفاده از روش های بیوشیمیائی و میکروب شناسی شناسائی شده و تشخیص در سطح گونه با استفاده از آزمون PCR و بررسی وجود ژن OXA-51 انجام شد که 100 ایزوله جدا شده از نظر این ژن مثبت بودند.

نتایج تست غربالی تولید ESBL انجام شده روی این نمونه ها نشان داد که همه 100 ایزوله اسینتوباکتر بومانتی جدا شده، حداقل به یکی از پنج آنتی بیوتیک انتخابی (سفتریاکسون ، سفوتاکسیم ، سفتازیدیم ، سفپودوکسیم و آزترونام) مقاومت و از نظر تست غربالی تولید ESBL مثبت بودند که در مرحله بعد جهت انجام تست های تاییدی مورد بررسی قرار گرفتند.

برای انجام تست DDST از فاصله گذاری های 10 ، 20 و 30 میلی متر استفاده شد. در فواصل 20 و 30 میلی تر، نتایج بیشتر آنها منفی بود و با کاهش فاصله به میزان 10 میلی متر ، 53 مورد (53%) نتیجه مثبت نشان دادند. بیشترین موارد مثبت مشاهده شده نشان دهنده سینرژی بین دیسک سفپیم و دیسک مرکزی (آموکسی سیلین + اسید کلاولانیک) بود که 66% (35/5) را شامل شد. 20/8% موارد (11/5) نشان دهنده سینرژی بین هر چهار دیسک استفاده شده در این تست (سفتواکسیم ،سفتازیدیم، سفپیم و آزترونام) و دیسک مرکزی بود. در 9/4% (5/5) از موارد مثبت این تست سینرژی بین دیسک های سفپیم و سفتازیدیم و دیسک مرکزی و در 3/7% موارد (2/5) سینرژی بین دیسک های سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفپیم و دیسک مرکزی مشاهده شد (شکل 1).

این نتایج نسبت به نتایجی که توسط *sinha* و *endimiani* در هند و ایتالیا که به ترتیب به میزان 28% و 26% گزارش شده ، بیشتر است (20، 19). نتایج بدست آمده از تست تاییدی DDST نشان داد که انجام این تست در فاصله های 20 و 30 میلی متر که معمولا در مورد باکتری های خانواده آنتروباکتریواسه توصیه شده در مورد اسینتوباکتر بومانی نتایج مناسبی نمانده و اکثریت نمونه ها در این فاصله گذاری نتایج منفی نشان دادند. اما با کاهش فاصله دیسک ها به 10 میلی متر نتایج قابل قبولی بدست آمد که با نتایج تست توصیه شده CLSI یعنی CDT مطابقت داشت. نتایج مطالعات دیگر انجام شده با این روش نیز نتایج مشابهی را نشان داد است. نتایج مطالعه ای که توسط Yong و هم کاران در سال 2003 در کره جنوبی انجام شده نشان می دهد که با کاهش فاصله به 10 میلی متر و حتی کمتر نتایج بهتری بدست آمد به صورتی که از 53 نمونه که با استفاده از آزمون PCR وجود ژن های عامل تولید ESBL در آنها به اثبات رسیده بود 98% نمونه ها با استفاده از این تست تاییدی مثبت شدند (11). هم چنین در مطالعه Jeong و هم کاران نیز با کاهش فاصله نتایج مشابهی بدست آمد (18).

نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین سینرژی به سمت دیسک سفپیم است که 66% (35/5) موارد تست مثبت شده را شامل می شد. در مطالعه Jeong در سال 2003 (18) و *Sinha* در سال 2007 (19) نمونه های اسینتوباکتر بومانی تست شده با این روش به ترتیب به میزان 90% و 76% سینرژی به سمت دیسک سفپیم را نشان دادند که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد.

نتایج تست CDT نشان داد که 64% از نمونه ها تولید کننده ESBL بودند. در مطالعه *Endemiani* و هم کاران در سال 2007 در ایتالیا 28% ایزوله های اسینتوباکتر بومانی تولید کننده ESBL بودند (20) که نشان دهنده شیوع بیشتر ایزوله های تولید کننده ESBL در مطالعه ما است.

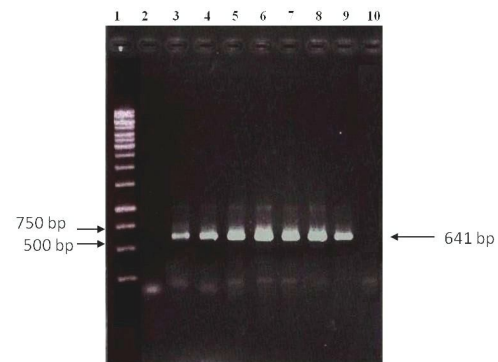
نتایج هر دو تست تاییدی در این مطالعه نشان داد که در مجموع 70% ایزوله های اسینتوباکتر بومانی تولید کننده ESBL بودند. این ایزوله ها در مرحله بعد و با استفاده از تست PCR از نظر وجود ژن PER-1 بررسی شدند که 72/8% این ایزوله ها (51/7) دارای این ژن بودند. با توجه به بررسی های انجام شده این اولین گزارش از وجود ژن PER-1 در ایزوله های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از ایران است. مطالعات انجام شده در کشورهای دیگر مانند ترکیه ، کره جنوبی و چین میزان شیوع این ژن را در اسینتوباکتر بومانی به ترتیب 46% ، 54/6% و 77/8% گزارش کرده اند که با نتایج مطالعه ما هم خوانی داشته و نشان دهنده شیوع بالای این ژن بخصوص در کشورهای آسیایی است (10-12).

شیوع بالای این ژن در کشور ترکیه که در مجاورت ایران و استان آذربایجان شرقی قرار گرفته هم چنین وجود ارتباطات نزدیک بین این دو منطقه می تواند یکی از علل احتمالی در انتقال ژن PER-1 و در نتیجه شیوع بالای این ژن در این منطقه باشد که البته اثبات این فرضیه ، نیاز به بررسی بیشتر بخصوص تعیین تیپ های شایع در این منطقه و مقایسه آن با تیپ های شایع در کشور ترکیه دارد.

نتایج این مطالعه نشان می دهد با استفاده از روش CDT ، 96% ایزوله های اسینتوباکتر بومانی دارای ژن PER-1 بودند در حالی که با استفاده از روش DDST ، 64/7% ایزوله های حاوی این ژن شناسایی شدند که نشان می دهد هر چند ارتباط معنی داری بین نتایج این روشها و وجود ژن PER-1 وجود دارد (p<0.001). اما با استفاده از تست CDT تعداد بیشتری از ایزوله های حاوی ژن شناسایی شدند.

تست DDST با وجود این که کم هزینه است اما به دلیل وجود رفرانس های مختلف در خصوص میزان فاصله گذاری های بین دیسک ها و هم چنین کوچک بودن سینرژی و مشکل بودن تفسیر نتایج آن کمتر توصیه می گردد. اما تست CDT از نظر انجام و تفسیر نتایج ساده تر بوده و با توجه به نتایج این مطالعه ، این روش با دقت بالاتری ایزوله های تولید کننده ژن های ESBL بخصوص PER-1 را تشخیص داده و در مطالعات مشابه می تواند به عنوان روش ارجح استفاده گردد. همچنین در این روش می توان با اضافه کردن دو دیسک ترکیبی حاوی اسید کلواتیک به دیسک های معمول مورد استفاده در تست آنتی بیوگرام ، هم زمان با این آزمون ، تست تاییدی تولید ESBL را نیز انجام داد که در وقت و هزینه انجام این تستها صرفه جویی می گردد.

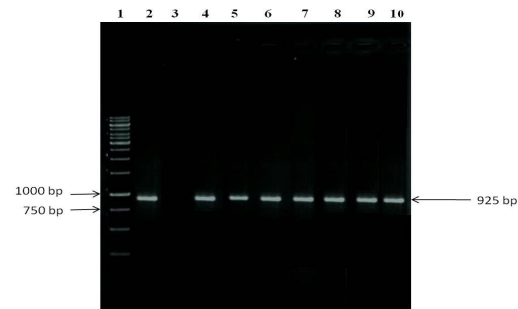
نتایج آزمون PCR انجام شده بر روی 70 ایزوله ESBL مثبت ، نشان داد که 72/8% این ایزوله ها (51/7) دارای ژن PER-1 بودند. با روش CDT ، 96% و با روش DDST 64/7% ایزوله های اسینتوباکتر بومانی دارای ژن PER-1 بودند (p<0.001، شکل 3 و 4).



شکل شماره 3: تکثیر ژن OXA-51. ستون 1 سایز مارکر 1Kb.

ستون 2 No DNA ، ستون 3 کنترل مثبت ، ستون 4 تا 9 ایزوله

های اسینتوباکتر بومانی حاوی ژن OXA-51



شکل شماره 4: تکثیر ژن PER-1. ستون 1 سایز مارکر 1Kb. ستون

2 کنترل مثبت ، ستون 3 No DNA ، ستون 4 تا 10 ایزوله های

اسینتوباکتر بومانی حاوی ژن PER-1

بحث

عفونت های بیمارستانی از جمله مشکلات مهم جامعه پزشکی است که هر ساله موجب خسارت های جانی و مالی فراوان می گردد. اسینتوباکتر بومانی یکی از عوامل مهم این عفونت ها است که در حال حاضر به اکثریت آنتی بیوتیک های مورد استفاده در محیط بیمارستان مقاومت نشان می دهد به شکلی که درمان عفونت های ناشی از آن به صورت یک مشکل جهانی درآمده است (3-1). از جمله آنتی بیوتیک های مورد استفاده در درمان عفونت های ناشی از این باکتری ، آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام است که مطالعات انجام شده در سال های اخیر نشان دهنده ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیکها است. مکانیسم های مختلفی در ایجاد این مقاومت نقش دارند که مهم ترین آنها تولید آیزوله های بتالاکتاماز بخصوص بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) توسط این باکتری است (4-6).

نتایج مطالعه حاضر که با هدف تعیین میزان شیوع ایزوله های اسینتوباکتر بومانی تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) با روش های مختلف انجام شد نشان می دهد که همه ایزوله های جدا شده از نظر تست غربالی تولید ESBL مثبت بودند. این نتایج با نتایج مطالعاتی که توسط Yong و Jeong در سالهای 2003 و 2005 در کره جنوبی انجام شده و نشان دهنده مثبت بودن این تست در اکثریت ایزوله های اسینتوباکتر بومانی است مطابقت دارد (18، 11). در این مطالعه 53% از این ایزوله ها با استفاده از تست تاییدی DDST مثبت بودند که

در این باکتری مدنظر قرار گیرد. خودداری از مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها و هم چنین استفاده از داروهای موثر در درمان عفونت های ناشی از این باکتری می تواند در پیشگیری از گسترش مقاومتها در این گونه موثر باشد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که میزان شیوع ژن PER-1 در ایزوله های اسینتوباکتر بومانئی جدا شده بسیار بالا بوده و می تواند به عنوان یکی از عوامل اصلی مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام

REFERENCES

1. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev.* 1996; 9(2):148-165.
2. Towner K. (2006). The Genus *Acinetobacter*. *Prokaryotes.* 2006;6: 746-758.
3. Peleg A, Seifert H, Paterson D. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(3): 538-582.
4. Perez F, Hujer A, Hujer K, Decker B, Rather P, Bonomo R. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51 (10): 3471-3484.
5. Walsh, C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature.* 2000;406 (6797): 775-781.
6. McGowan, JE. Resistance in nonfermenting Gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. *The American Journal of Medicine.* 2006;119: S29-S36.
7. Ambler RP. The structure of β -lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1980;289(1036): 321-31.
8. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(9): 826-836.
9. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(5): 962-969.
10. Vahaboglu H., Ozturk R, Aygun G, Coskuncan F, Yaman A, Kaygusuz H. et al. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41(10): 2265-2269.
11. Yong D, Shin JH, Kim S, Lim Y, Yum JH, Lee K, et al (). High prevalence of PER-1 extended-spectrum betalactamase-producing *Acinetobacter* spp. in Korea. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(5): 1749-1751.
12. Wang H, Guo P, Sun H, Wang H, Yang Q, Chen M, et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 5(11): 4022-4028.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: sixteenth informational supplement. 2006;CLSI document M100-S16. CLSI, Wayne, Pa.
14. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broadspectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis.* 1988;10(4): 867-78.

15. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, and Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the bla_{OXA-51}-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol.* 2006;44(8): 2974-2976.
16. Ruiz M, Marti S, Fernandez-Cuenca F, Pascual A, Vila J. High prevalence of carbapenem-hydrolysing oxacillinases in epidemiologically related and unrelated *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Spain. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13 (12):1192-1198.
17. Poirel, L., A. Karim, A. Mercat, I. Le Thomas, H. Vahaboglu, C. Richard, and P. Nordmann. Extended-spectrum beta-lactamase-producing strain of *Acinetobacter baumannii* isolated from a patient in France. *J Antimicrob Chemother.* 1999;43(1): 157-158.
18. Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Yong D, Woo GJ, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of *Acinetobacter baumannii* producing PER-1 extended-spectrum beta-lactamase in an intensive care unit. *J Hosp Infect.* 2005;59(3): 242-8.
19. Sinha M, Srinivasa H, Macaden R. Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species. *Indian J Med Res.* 2007;126(1): 63-67
20. Endimiani A., Luzzaro F, Migliavacca R, Mantengoli E, Hujer AM, Hujer KM, et al. Spread in an Italian hospital of a clonal *Acinetobacter baumannii* strain producing the TEM-92 extended-spectrum beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(6): 2211-2214.