

فراوانی مقاومت کارباپنمازی و متالوبتالاکتامازی و ژن‌های OXA-23، OXA-48 و NDM در ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی در سال ۱۳۹۶

بهمن اظهري^۱، فاطمه نوربخش^۲، مریم عیدی^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۰۸/۲۴ تاریخ پذیرش ۱۳۹۹/۱۲/۲۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: یکی از مشکلات مهم در مراکز درمانی، عفونت‌های بیمارستانی ناشی از اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک است. هدف از انجام این تحقیق جداسازی و شناسایی سویه‌های تولیدکننده کارباپنماز و متالوبتالاکتاماز با استفاده از روش‌های فنوتیپی و ژن‌های OXA-48، OXA-23 و NDM می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۷۹ سویه اسینتوباکتر بومانی از بیماران بستری در بیمارستان قلب تهران جدا شد و با آزمون‌های بیوشیمیایی تشخیص داده شدند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به کارباپنم‌ها و سفوتاکسیم و سفنازیدیم با روش انتشار در دیسک تعیین شد. روش‌های فنوتیپی دیسک ترکیبی، دیسک دوتایی و هاج تست جهت تعیین فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت تعیین وجود ژن‌های OXA-48، OXA-23 و NDM انجام شد.

یافته‌ها: در این مطالعه بیشترین مقاومت در اسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های امی‌پنم و ارتاپنم به روش انتشار در دیسک مشاهده شد. با روش دیسک ترکیبی ۹۶/۲ درصد ایزوله‌ها نسبت به امی‌پنم، فعالیت کارباپنمازی و ۹۴/۹۳ درصد متالوبتالاکتامازی نشان دادند با روش دیسک دوتایی ۸۶/۰۷ درصد و ۹۱/۱۳ درصد ایزوله‌ها به ترتیب فعالیت کارباپنمازی و متالوبتالاکتامازی داشتند بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز و کارباپنماز به روش دیسک ترکیبی و روش دیسک دوتایی ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). و ۹۱/۱۴ درصد ایزوله‌ها با روش MHT پاسخ مثبت دادند بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و سویه‌های تولیدکننده کارباپنماز به روش MHT ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ($P > 0.05$). بررسی مولکولی نشان داد ژن OXA-48 در ۱۰۰ درصد و ژن OXA-23 در ۹۸/۸۳ درصد ایزوله‌ها وجود دارد و ژن NDM در هیچ یک از ایزوله وجود نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد بین روش‌های تعیین فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی، روش دیسک ترکیبی دارای حساسیت بیشتری است. فراوانی ژن‌های OXA-48 و OXA-23 نشان‌دهنده مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: اسینتوباکتر بومانی، کارباپنماز، متالوبتالاکتاماز، روش دیسک ترکیبی، روش سینرژسم دیسک دوتایی، روش اصلاح‌شده هاج

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره دوم، ص ۹۲-۱۰۴، اردیبهشت ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، تلفن: ۰۹۱۲۲۰۴۳۶۵۴

Email: niloofar_norbakhsh@yahoo

مقدمه

یکی از ویژگی‌های قابل توجه این ارگانسیم مقاومت دارویی ذاتی و یا قابلیت بالا در کسب فاکتورهای مختلف مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی در بیمارستان است. این امر در حال حاضر مشکلات فراوانی را برای پزشکان در درمان بیماران آلوده به این ارگانسیم ایجاد کرده است (۳).

اسینتوباکتر بومانی (*Acinetobacter baumannii*) یک پاتوژن مهم است که به‌عنوان عامل عفونت بیمارستانی ایجادکننده سپتی سمی، پنومونی وابسته به ونتیلیاتور و عفونت‌های مجاری ادراری به‌خصوص در بیماران بستری‌شده در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) شناخته شده است (۱،۲).

^۱ گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین- پیشوا، ایران

^۲ گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین- پیشوا، ایران (نویسنده مسئول)

^۳ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین- پیشوا، ایران

متحرک نظیر پلاسمیدها قرار گرفته‌اند و به سرعت در بین باکتری‌های گرم منفی منتشر می‌گردند (۱۲).

داروهای گروه کاربامپنم تا سال‌های اخیر، برای درمان قطعی و نهایی عفونت‌های باکتری‌های گرم منفی مورد استفاده قرار می‌گرفت، ظهور مقاومت به این داروها، زنگ خطری جدی در درمان این عفونت‌ها می‌باشد (۱۳). شناسایی آنتی‌بیوتیک‌های کاربامپنم با استفاده از روش‌های معمول آزمایشگاهی دیسک دیفیوژن آگار مشکل می‌باشد، بنابراین احتمال خطا در گزارش الگوی آنتی‌بیوگرام این نوع باکتری‌ها توسط مراکز درمانی وجود دارد. اما می‌توان این آنتی‌بیوگرام را به روش ژنوتیپی PCR به‌طور دقیق و قابل اعتماد بررسی نمود (۱۴). جهت بررسی تولید آنتی‌بیوتیک‌های کاربامپنم و متالوبتالاکتاماز از باکتری *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده از نمونه‌های بالینی، روش‌های مختلف از جمله تست MHT، آزمون‌های دیسک ترکیبی، دیسک دوتایی و دیسک دیفیوژن استفاده می‌گردد (۱۵).

هدف از این مطالعه جداسازی و شناسایی سویه‌های تولیدکننده آنتی‌بیوتیک‌های کاربامپنم و متالوبتالاکتاماز و بررسی وجود ژن‌های *OXA-48*، *OXA-23* و *NDM* در سویه‌های *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده از بیماران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و شناسایی: از ۱۵۴ بیمار بستری در بیمارستان قلب تهران که دارای علائم عفونت بیمارستانی بودند از تاریخ ۱۵ اردیبهشت ۱۳۹۶ به مدت ۸۵ روز نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌های بالینی شامل ادرار (میانه)، خون، خلط (صبحگاهی)، زخم و تراشه بودند که ۴۴ نمونه از زنان و ۳۵ نمونه از مردان جدا شد، و سپس هر نمونه روی محیط‌های بلاداگار و مک کانکی آگار کشت داده شدند. کشت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. سپس تست‌های افتراقی (TSI, SIM, MR-VP) سیمون سیرتات، اوره آز، کاتالاز، اکسیداز جهت تشخیص باکتری‌ها انجام شد و ۷۹ سویه *اسیتوباکتر بومانی* از نمونه‌های بالینی جدا شد.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن:

برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی از روش انتشار دیسک مطابق با دستورالعمل موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی CLSI استفاده شد. حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، ارتاپنم (۱۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۱۰ میکروگرم) و سفنازیدیم (۱۰ میکروگرم)، (شرکت پاتن طب ایران) انجام شد. ابتدا از باکتری‌های مورد مطالعه سوسپانسیون با کدورتی برابر با کدورت نیم مک فارلند تهیه شد، سپس به کمک سوآپ از سوسپانسیون

در سال‌های اخیر به سبب افزایش روزافزون مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف سویه‌هایی از این ارگانیزم با الگوی مقاومت دارویی چندگانه *Multi Drug Resistance* (MDR) ظهور کرده‌اند. ارگانیزم‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه به ارگانیزم‌هایی اطلاق می‌گردد که حداقل به ۳ کلاس آنتی‌بیوتیکی مهم و مصرفی از جمله داروهای بتالاکتام، آمینوگلیکوزید و کینولون‌ها مقاومت نشان می‌دهند (۴).

آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام گروه گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که در ساختمان مولکولی‌شان حلقه بتالاکتام وجود دارد (۵). از آنتی‌بیوتیک‌های این گروه می‌توان به پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، منوباکتام‌ها و کاربامپنم‌ها اشاره کرد (۶). کاربامپنم‌ها شامل ارتاپنم، ایمی پنم، دوری پنم و مروپنم می‌باشد و از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام محسوب می‌شوند که می‌توانند نقش مهمی در درمان عفونت‌هایی با مقاومت چندگانه و شدید ایفا کنند (۷).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌وسیله القای آنتی‌بیوتیک‌های غیرفعال کننده آنتی‌بیوتیک‌ها مانند: بتالاکتامازها، سفالوسپورینازها، کاربامپنمازها، موتاسیون در ژن‌های کد کننده پروتئین‌های غشای خارجی، تغییر در گیرنده یا محل اثر آنتی‌بیوتیک‌ها رخ می‌دهد. تولید بتالاکتاماز یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت در باکتری‌ها است. متالوبتالاکتامازها به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های دخیل در ایجاد مقاومت به ترکیبات ضد میکروبی، مانند کاربامپنم‌ها و سفالوسپورین‌های نسل سوم به شمار می‌روند (۸،۹). بتالاکتامازهای کلاس B متالوبتالاکتامازها دارای اتم روی در جایگاه فعال می‌باشند. این آنتی‌بیوتیک‌ها برخلاف سرین بتالاکتامازها وابستگی پائینی به منوباکتام‌ها دارند و به‌وسیله کلوالانیک اسید، تازوباکتام و سولباکتام که بازدارنده‌های بتالاکتامازها هستند، مهار نمی‌شوند. در عوض آن‌ها در محیط آزمایشگاهی به‌وسیله بازدارنده‌های متالوبتالاکتامازها شامل اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، و دی پیکولینیک اسید (DPA) مهار می‌شوند (۱۰).

کاربامپنمازهای کلاس D یا اگراسیلیناز، بتالاکتامازهایی هستند که در جایگاه فعال آنتی‌بیوتیک اسیدامینه سرین دارند و کاربامپنمازهای OX-type (OTC) نامیده می‌شوند. اگرچه (OTC) ها فعالیت کاتالیتیکی کمتری نسبت به متالوبتالاکتام‌ها دارند، اما به‌عنوان یک پتانسیل خطرناک بررسی می‌شوند و شایع‌ترین کاربامپنمازهای اسیتوباکتر بومانی هستند. اولین (OCT) در اسیتوباکتر بومانی از سویه‌ای که در یک بیمارستان اسکاتلند در سال ۱۹۸۵ ایزوله شده بود جدا شد که در حال حاضر به نام OXA-23 نامیده می‌شود (۱۱). تولید آنتی‌بیوتیک کاربامپنماز مهم‌ترین مکانیسم مقاومت نسبت به کاربامپنم محسوب می‌شود، این آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی عناصر ژنتیکی

در این روش دیسک بلانک را به فنیل برونیک اسید آغشته کرده و در دمای اتاق قرار داده شد تا خشک شود. مطابق دستور تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی از ۷۹ سویه اسپینتوباکتر بومانی سوسپانسیون معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه شد و در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت متراکم انجام شد، سپس دیسک ایمی پنم (۱۰ میکروگرم) به فاصله ۲۰ میلی‌متر از دیسک مرکزی که حاوی فنیل برونیک اسید است قرار داده شد، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. افزایش هاله عدم رشد بین کاربپنم‌ها و دیسک حاوی بازدارنده فنیل برونیک اسید به‌عنوان نتیجه مثبت (KPC) در نظر گرفته می‌شود. آزمایش فوق برای بازدارنده (EDTA) جهت تعیین MBL نیز انجام شد (۲۸، ۲۹).

بررسی فعالیت کاربپنمازی با روش فنوتیپی MHT^۳:

ابتدا سوسپانسیون باکتریایی با غلظت ۰/۵ مک فارلند از *E. coli* ATCC ۲۵۹۲۲ در مولر هینتون برات تهیه شد. سوسپانسیون تهیه شده به میزان ۱:۱۰ رقیق شد و سپس به صورت یکنواخت بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. یک دیسک ایمی پنم در مرکز پلیت قرار گرفت، سپس اسپینتوباکتر بومانی به صورت خط مستقیم از لبه دیسک تا کناره‌های پلیت کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴-۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید (۲۶).

ایزوله MHT مثبت، بعد از ۲۴ ساعت، یک بریدگی برگ شبدری شکل از محل رشد *E. coli* ATCC ۲۵۹۲۲ در امتداد ایزوله مورد آزمایش در ناحیه مهار رشد دیسک ایجاد می‌کند.

بررسی مولکولی:

استخراج ژنوم با روش فنل - کلروفرم انجام شد. جهت بررسی ژن‌های اصلی مقاومت به کاربپنم‌ها OXA-48 و OXA-23 و همچنین ژن متالوبتالاکتاماز NDM^۴ آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) انجام شد. در این بررسی از اسپینتوباکتر بومانی ATCC 19606 به‌عنوان کنترل استفاده شد.

میکروبی برداشته و در تمام جهات روی محیط مولر هینتون آگار به صورت روش متراکم (چمنی) کشت داده شد، سپس به کمک پنس استریل، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی در سطح پلیت قرار داده شده به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در انکوباتور در ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس با استفاده از یک خط کش، قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه گرفته شد و طبق استاندارد (CLSI) (۲۰۱۷) به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش شدند.

تست دیسک ترکیبی (CDT):^۱

برای این کار ابتدا محلول فنیل برونیک اسید (Aldrich, Sigma) در DMSO با غلظت ۲۰ mg/ml / ۱۰۰ ml تهیه شد سپس ۲۰ ml از این محلول به دیسک‌های حاوی ایمی پنم (۱۰ میکروگرم) و مروپنم (۱۰ میکروگرم) تزریق شد و ۶۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت تا خشک شود. سپس EDTA با غلظت ۰/۱ مول در آب مقطر استریل حل شد. ۱۰ میکرولیتر از این محلول (که حاوی ۲۹۲ میکروگرم از EDTA است) به هر یک از دیسک‌های فوق تزریق شده و خشک گردید.

از هر یک از ۷۹ سویه اسپینتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های بالینی، سوسپانسیون معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه شد و در محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت متراکم کشت داده شد. از دیسک ایمی پنم که حاوی فنیل برونیک اسید و یا EDTA بودند بروی پلیت قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس هاله ایجاد شده اطراف آن بررسی گردید. اگر قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک حاوی فنیل برونیک اسید بیشتر از ۵ میلی‌متر از اطراف دیسک به تنهایی باشد باکتری قادر به تولید آنزیم کاربپنماز است (KPC). اگر قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک حاوی EDTA بیشتر از ۵ میلی‌متر از اطراف دیسک به تنهایی باشد باکتری قادر به تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز (MBL) است (۲۷).

روش سینرژیسیم دیسک دو تایی (DDST):^۲

جدول (۱): توالی پرایمرها

Primers	5'→3' Sequence	Product size(bp)	Annealing temperature	Reference
OXA-48	TTGGTGGCATCGATTATCG GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	744	57	16
OXA-23	GATCGGATTGGAGAACCAGA ATTTCTGACCGCATTTCCA	501	57	17
NDM	GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC CGAATGGCTCATCACGATC	621	57	18

³ Modified Hodge Test

⁴ New Delhi Metallo betalactamase

¹ Combined Disk Test

² Double Disk Synergy Test

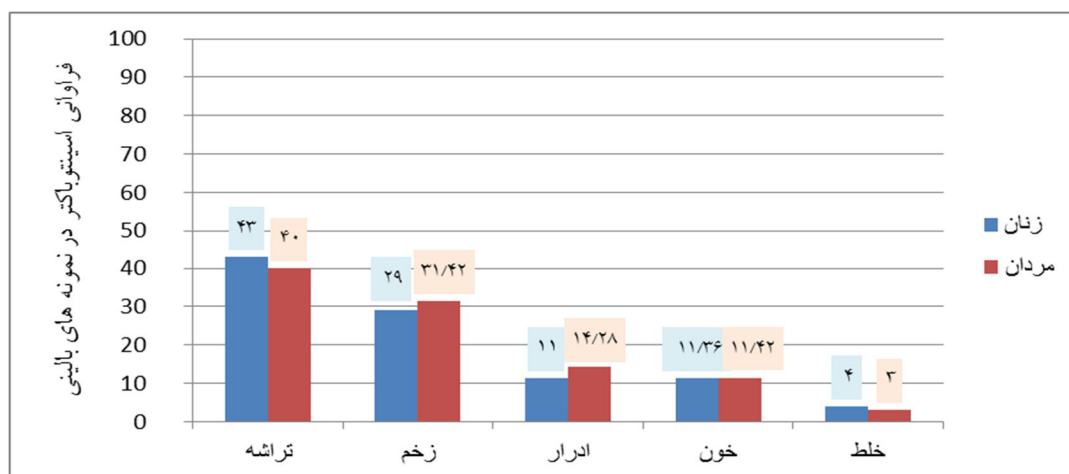
۱۰ دقیقه انجام شد. سپس محصول PCR در ژل آگارز ۲ درصد با 6x Loading رنگ آمیزی و تحت اشعه UV عکس برداری گردید. از مارکر ۱۰۰bp برای شناسایی محصول PCR استفاده شد.

یافته‌ها

فراوانی نمونه‌های بالینی مورد مطالعه:

سویه‌های اسینتوباکتر در این مطالعه از نمونه تراشه، زخم، ادرار، خون و خلط به دست آمد. فراوانی باکتری‌های استخراج شده از نمونه‌ها در نمودار ۱ نشان داده شده است.

پرایمرها از شرکت سیناژن تهیه شده و مطابق دستورالعمل شرکت آماده گردید. واکنش PCR به کمک کیت سیناژن انجام گرفت: در این مطالعه از ۱۵ میکرولیتر ماستر میکس و ۱۰ پیکومول از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت و ۸ میکرولیتر آب مقطر استفاده شد. برنامه دستگاه ترموسایکلر برای هر سه ژن در ۳۵ سیکل حرارتی شامل دمای دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه، دمای دناتوراسیون ۹۵ درجه به مدت ۵۰ ثانیه، دمای اتصال پرایمر ۵۷ درجه به مدت ۱ دقیقه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت

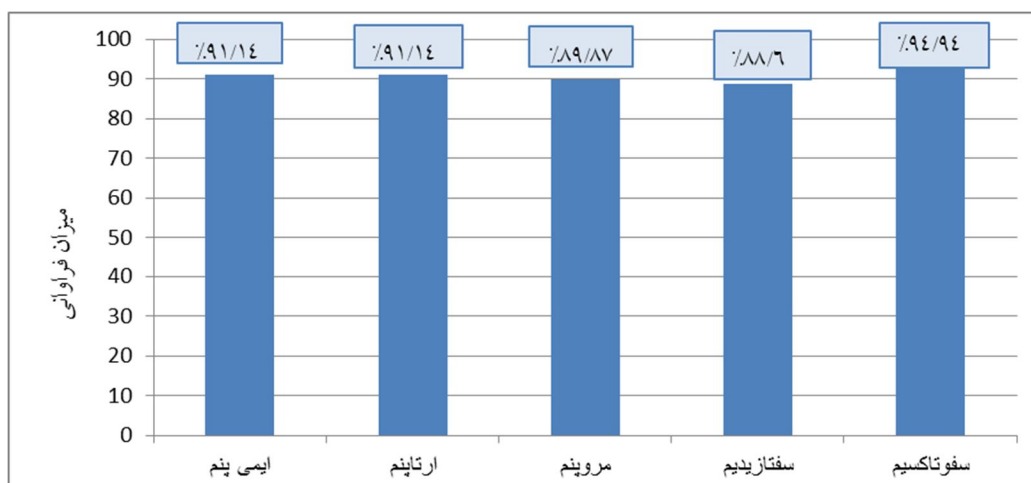


نمودار (۱): فراوانی باکتری اسینتوباکتر بومانی در نمونه‌های بالینی

بالا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه بودند. فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نمودار ۲ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام با روش دیسک دیفیوژن:

آنالیز تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در این مطالعه نشان داد که اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی



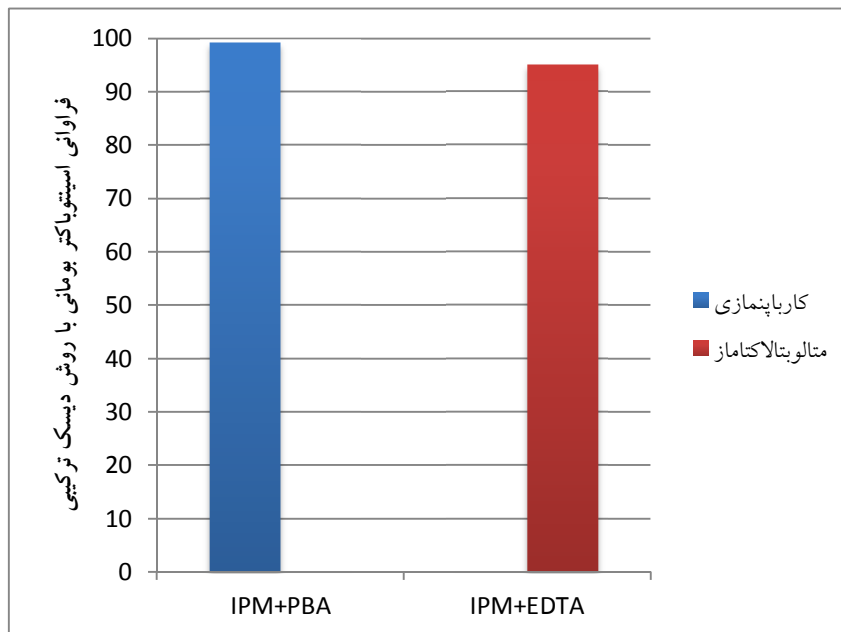
نمودار (۲): تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن

نتایج حاصل از روش دیسک ترکیبی: برای مقایسه فعالیت کاربپنمازی و متالوبتالاکتامازی از دیسک‌های ایمی پنم و مروپنم استفاده گردید. بدین صورت که نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی پنم ۷۶ سویه (۹۶/۲ درصد) دارای آنزیم کاربپنماز بوده و ۷۵ سویه (۹۴/۹۳ درصد) دارای آنزیم

متالوبتالاکتاماز بودند. (شکل ۱ و نمودار ۳). در بررسی آماری انجام شده مشخص شد، بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به دیسک ایمی پنم و سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز و کاربپنماز به روش دیسک ترکیبی ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$).



شکل (۱): تعیین فعالیت متالوبتالاکتامازی و کاربپنمازی به روش دیسک ترکیبی



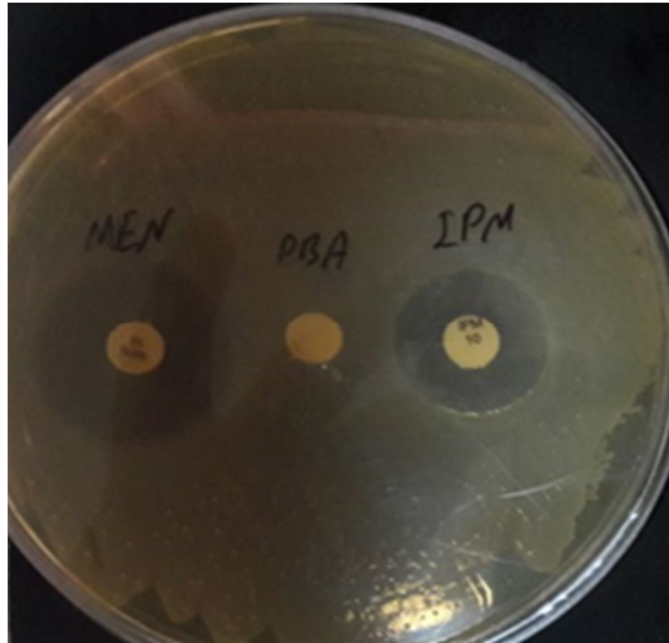
نمودار (۳): فراوانی فعالیت متالوبتالاکتامازی و کاربپنمازی به روش دیسک ترکیبی

نتایج حاصل از روش سینرژیسیم دیسک دوتایی (DDST): نتایج به دست آمده بررسی فعالیت متالوبتالاکتامازی و کاربپنمازی به روش سینرژیسیم دیسک دوتایی نشان داد که

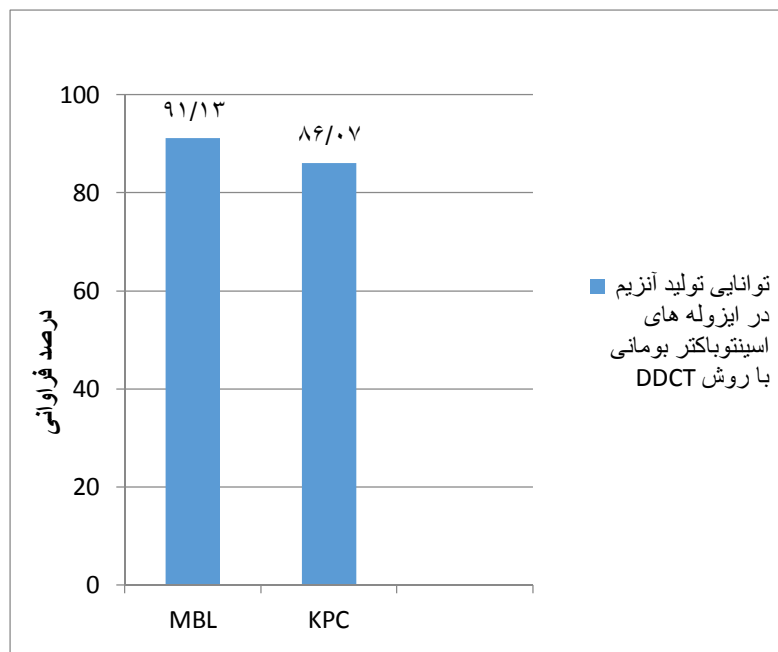
ایزوله‌های اسپیتوباکتر بومانی نسبت به دیسک‌های بلانک حاوی EDTA در مجاورت ایمی پنم ۹۱/۱۳ درصد مقاوم بوده که نشانگر تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز در باکتری است و در حضور دیسک‌های بلانک حاوی فنیل برونیک اسید در کنار ایمی پنم ۸۶/۰۷ درصد

معنی داری وجود ندارد. بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به دیسک ایمی پنم و سویه‌های تولیدکننده کارباپنماز به روش دیسک دوتایی ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$).

مقاوم بوده است (شکل ۲ و نمودار ۴). در بررسی آماری مشخص شد، بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به دیسک ایمی پنم و سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز به روش دیسک دوتایی ارتباط



شکل (۲): تعیین فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی به روش سینرژیزم دیسک دوتایی



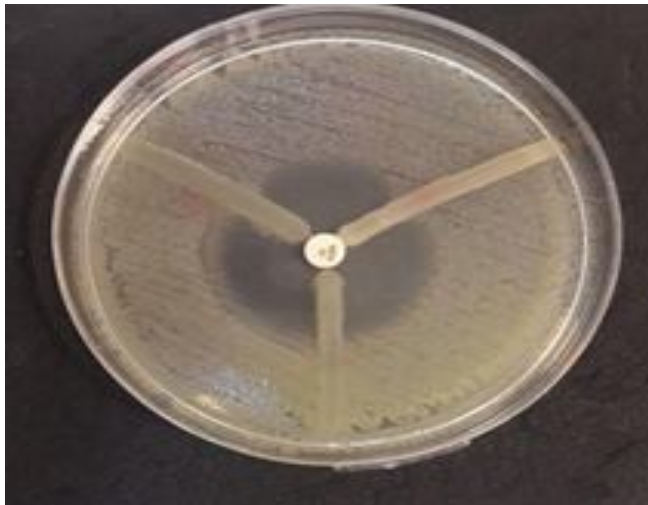
نمودار (۴): فراوانی فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی به روش سینرژیزم دیسک دوتایی

شده و برای دیسک آنتی‌بیوتیکی ایمی پنم از نظر وجود آنزیم‌های کارباپنماز مورد بررسی قرار گرفت. ۷۲ سویه (۹۱/۱۴ درصد) به روش MHT فعالیت کارباپنمازی نشان دادند (شکل ۳).

نتایج حاصل از روش فنوتیپی تست هوج اصلاح شده

(MHT):

۷۹ سویه اسپینتوباکتر بومانی مورد مطالعه به روش هوج اصلاح



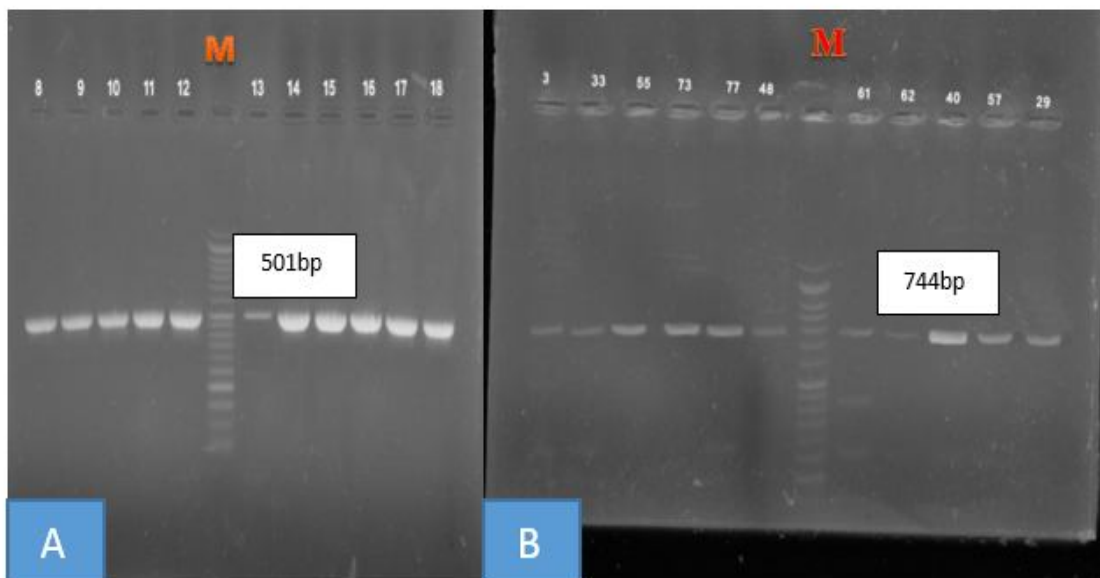
شکل (۳): تعیین فعالیت کارباپنمازي به روش تست هاج اصلاح شده (MHT)

ژن‌های OXA-48، OXA-23 و NDM مورد بررسی قرار گرفتند. همه ۷۹ سویه (۱۰۰ درصد) باندي به اندازه ۷۴۴ bp تشکیل دادند که نشان می‌دهد همه سویه‌ها دارای ژن OXA-48 می‌باشد. ۷۸ سویه (۹۸/۷۳ درصد) باندي به اندازه ۵۰۱ bp تشکیل دادند که نشان‌دهنده وجود ژن OXA-23 است. نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات PCR ژن NDM برای ۷۹ سویه نشان داد که هیچ یک از سویه‌ها باندي تشکیل ندادند و فاقد ژن NDM می‌باشند (شکل ۴).

در بررسی آماری انجام شده مشخص شد، بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به دیسک ایمی‌پنم و سویه‌های تولیدکننده کارباپنماز به روش MHT ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ($P>0.05$).

نتایج بررسی ژن‌های بتالاکتاماز OXA-48، OXA-23 و NDM

در این مطالعه با استفاده از تکنیک PCR، ۷۹ ایزوله برای وجود



شکل (۴): محصول PCR (A) نمونه‌های تکثیر شده با اندازه ۷۴۴ جفت باز دارای ژن OXA-23 و (B) نمونه‌های تکثیر شده با اندازه ۵۰۱ جفت باز دارای ژن OXA-48 و (C) محصول PCR ژن NDM. DNA ladder 50bp : M.

بحث و نتیجه‌گیری

کنترل عفونت‌های کسب شده از بیمارستان که به‌وسیله باسیل‌های گرم منفی مقاوم به چند دارو ایجاد می‌شود به‌عنوان یک مشکل اساسی در کشورهای توسعه یافته طی دو دهه گذشته شناخته شده است (۱۹). امروزه استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی شده است. (۲۱، ۲۰).

ظهور و انتشار گونه‌های *اسینتوباکتر مقاوم* به چند دارو (MDR)، مقاومت به همه به‌جز یک یا دو دارو (XDR) و مقاوم به همه داروها (PDR) موجب نگرانی‌های بسیاری در سراسر جهان شده است (۲۲).

گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در محیط بیمارستانی به‌عنوان یک خطر جدی برای سلامت انسان محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر حساسیت آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در *اسینتوباکتر بومانی* با روش‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج این تحقیق نشان داد که درصد بالایی از ایزوله‌ها به ایمی پنم (۹۱/۹۴ درصد) مقاوم بودند. تا اوایل سال ۱۹۷۰ *اسینتوباکتر بومانی* نسبت به بیشتر عوامل آنتی‌بیوتیکی حساس بود، در حالی که میزان مقاومت نسبت به بسیاری از کلاس‌های دارویی در سال ۱۹۸۰ افزایش پیدا کرد و در اوایل سال ۱۹۹۰ گزارشات مقاومت نسبت به ایمی پنم آغاز شد (۲۳). در مطالعه‌ای که توسط Ibanez و همکارانش در اسپانیا در سال ۲۰۰۴ میلادی صورت گرفت، ۷۸ درصد از نمونه‌ها مقاوم به ایمی پنم بودند (۲۴). در مطالعه دیگری Gao و همکارانش نشان دادند که ۹۳/۷۵ درصد از ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* موجود در هوا به ایمی پنم مقاوم بودند (۱۲). میزان بالای مقاومت *اسینتوباکتر بومانی* به کاربایتم به صورت فراوان در ایزوله‌های کلینیکی دیده شده است (۲۵ و ۲۳) در حالی که برخی مطالعات اروپایی مقاومت کمتری را نسبت به کاربایتم‌ها گزارش کرده‌اند، مطالعات انجام شده در سال ۲۰۱۲ در کشورهای کره (۶۵/۳ درصد) و ترکیه (۸۰ درصد) میزان بالای مقاومت *اسینتوباکتر* را نسبت به ایمی پنم نشان دادند (۲۵).

برای شناسایی متالوبتالاکتاماز، هیچ دستور العمل استاندارد در دسترس نیست در نتیجه استاندارد سازی یک روش فنوتیپی برای غربال‌گیری ایزوله‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. چندین روش غربال‌گری برای شناسایی باکتری‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز بر پایه ممانعت از فعالیت متالوبتالاکتاماز توسط عوامل شلاته‌کننده همچون EDTA، معرفی شده است. آزمون‌های دیسک مبتنی بر مهار کننده‌های متالوبتالاکتاماز در ترکیب با کاربایتم‌ها می‌تواند برای *اسینتوباکتر بومانی* به دلیل تأثیر غیر اختصاصی مهار کننده‌ها بر سلول باکتری

اختصاصیت داشته باشد. EDTA، مانند بسیاری شلاته‌کننده‌های فلزی دیگر، سبب افزایش نفوذ پذیری غشای خارجی می‌شود که به‌طور بالقوه سبب نتایج مثبت کاذب آزمون متالوبتالاکتاماز می‌شود (۲۶). در این مطالعه میزان فعالیت کاربایتم‌زایی و متالوبتالاکتامازی در ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* مورد آزمایش برای آنتی‌بیوتیک ایمی پنم به ترتیب ۹۶/۲ درصد و ۹۴/۹۳ درصد مشاهده شد.

نظری منظم و همکارانش در سال ۱۳۹۳ مطالعه‌ای بر روی ایزوله‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های مختلف شهر تهران طی یک سال شناسایی کردند. آن‌ها جهت شناسایی سویه‌های مولد بتالاکتاماز، از روش دیسک ترکیبی استفاده کردند. بر طبق نتایج آزمون دیسک ترکیبی، ۲۰ درصد سویه‌ها مولد آنزیم بتالاکتاماز بودند (۲۷)، در مطالعه انجام شده در این تحقیق فعالیت متالوبتالاکتامازی با روش دیسک ترکیبی ۹۴/۹۳ درصد مشاهده شد، که ممکن است به دلیل افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مدت ۳ سال باشد. Irfan در سال ۲۰۱۱ تولید کاربایتم‌زا را در گونه‌های *اسینتوباکتر* جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستانی در هند را با روش CDT بررسی کرد، از ۱۰۰ ایزوله مورد بررسی ۸۳ ایزوله (۹۶/۶ درصد) تولیدکننده آنزیم کاربایتم‌زا بودند (۲۸).

اطلاعات قبلی پیشنهاد می‌کنند که در روش سینرژیسیم، دیسک بلانک حاوی فنیل پرونیک اسید در کنار ایمی پنم و مروپنم برای شناسایی ایزوله‌های تولیدکننده کاربایتم‌زا و دیسک بلانک حاوی EDTA در مجاورت ایمی پنم و مروپنم برای شناسایی ایزوله‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز می‌تواند به دلیل کارایی بالا و نسبتاً آسان یک روش غربال‌گیری مفید باشد (۲۹). در مطالعه انجام شده با روش سینرژیسیم، ۸۶/۰۷ درصد سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* مورد بررسی دارای کاربایتم‌زا بودند و ۹۱/۱۳ درصد سویه‌ها دارای متالوبتالاکتاماز بودند. گودرزی و همکارانش در سال ۱۳۹۱ فراوانی *اسینتوباکتر بومانی* تولیدکننده MBL را با استفاده از روش DDST ۸۰/۶ درصد ارزیابی کردند و ایزوله‌های مورد بررسی فاقد ژن bla NDM بودند (۳۰).

روش MHT تنها روش تشخیصی و فنوتیپی کاربایتم‌زا است که توسط CLSI توصیه می‌شود. اصل مهم این روش غیرفعال سازی کاربایتم‌زا توسط سلول‌ها یا عصاره سلولی ارگانیسیم‌های تولیدکننده کاربایتم‌زا است. این تست برای شناسایی مکانیسم، حساس و مناسب است. با این حال، در این روش جزئیات نوع کاربایتم‌زا ارائه نمی‌شود (۳۱، ۳۲ و ۳۳).

آزمون MHT یک نسخه اصلاح شده آزمون Hodge است که توسط CLSI در سال ۲۰۰۹ معرفی شد. آزمون MHT، یک تست

DDST و ۵۶ درصد با روش MHT دارای آنزیم کاربپناز بودند (۳۶).

Irfan و همکارانش در سال ۲۰۱۱ بر روی گونه‌های اسینتوباکتر جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستانی در هند با استفاده از روش CDT تولید کاربپناز را مورد بررسی قرار دادند از ۱۰۰ ایزوله مورد بررسی ۸۳ ایزوله (۹۶/۶ درصد) تولیدکننده این آنزیم بودند (۲۸).

Amudhan و همکارانش در سال ۲۰۱۱ تولید بتالاکتاماز اسینتوباکتر بومانی را به روش CDT و MHT مورد مطالعه قرار دادند. ۹۲ ایزوله (۷۹/۳ درصد) با روش CDT تولید کاربپناز کردند و ۱۱۳ (۹۷/۴ درصد) ایزوله به روش MHT فعالیت کاربپنازی نشان دادند (۳۷).

Johns و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در هند فعالیت متالوبتالاکتامازی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی با روش DDST و MHT مورد مطالعه قرار دادند، آن‌ها به این نتیجه رسیدند ۳۶ ایزوله (۱۴/۸ درصد) با روش‌های DDST و MHT دارای متالوبتالاکتاماز بودند (۳۸).

در مطالعه حاضر برای شناسایی و تایید نهایی اسینتوباکتر بومانی از ژن‌های OXA-48، OXA-23 و NDM استفاده شد. از ۷۹ ایزوله‌ای که با روش‌های بیوشیمیایی شناسایی شده بودند ۷۹ ایزوله دارای ژن OXA-48، ۷۸ ایزوله دارای ژن OXA-23 و تمام ایزوله‌ها فاقد ژن NDM بودند.

OXA-23 و OXA-48 فراوان‌ترین ژن‌های رد یابی شده در بین ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی می‌باشند. بنابراین ژن OXA-23 و OXA-48 دلیل اصلی مقاومت ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های کلینیکی مورد مطالعه است. همچنین OXA-23 را به‌عنوان فراوان‌ترین ژن کد کننده کابپناز گزارش کرده‌اند (۱۲). باکتری‌های تولیدکننده NDM ژن bla NDM-1 بر روی پلاسمید های بزرگ مختلفی شناسایی شده است که به راحتی بین باکتری‌ها قابل انتقال می‌باشد و باکتری‌های تولید NDM-1 به‌عنوان یک تهدید جدید بالینی و سلامت عمومی شناخته شده‌اند (۳۹) که در سویه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد.

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی نشان داد، مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌نم، ارتاپنم و سفتازیدیم مشابه بود و از مقاومت آنتی‌بیوتیکی مروپنم و سفوتاکسیم بالاتر مشاهده شد. ضمناً مقایسه روش‌های مختلف نشان داد به دلیل اینکه نتایج روش دیسک ترکیبی با نتایج مولکولی و روش هوج اصلاح شده تشابه بیشتری دارد لذا در بررسی فنوتیپی روش دیسک ترکیبی روش مناسب‌تری برای تعیین فعالیت کاربپنازی و متالوبتالاکتامازی نسبت به دیسک دوتایی می‌باشد.

غربال‌گیری فنوتیپی برای باکتری‌های حساس به کاربپنم است و دارای حساسیت و اختصاصیت بالا (۹۰ درصد) در شناسایی کاربپنازهای آمبلر کلاس A نوع KPC و کلاس D (OXA-48) تولید شده در بین اعضای انتروباکتریاسه است. با این حال این روش در شناسایی بتالاکتامازها دارای حساسیت پایین، و برای سرین کاربپنازهای اختصاصیتی ندارد و زمان بر است. اما راه حل این مشکلات، اضافه کردن عنصر روی به محیط کشت است که حساسیت روش MHT را در تشخیص کاربپناز کلاس A، B، D بالا می‌برد. اگرچه انجام این روش در آزمایشگاه بالینی نسبتاً آسان و عملی است اما تفسیر نتایج آن نیاز به فرد با تجربه نیاز دارد (۲۶). ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی مورد مطالعه در این تحقیق ۷۲ سویه (۹۱/۱۴ درصد) نسبت به تست MHT نتیجه مثبت دادند.

Aparna و همکارانش در سال ۲۰۱۴ با مقایسه ۴ تست فنوتیپی DDST، MHT، CDT و E TEST برای تشخیص متالوبتالاکتاماز و کاربپناز تولید شده در ۱۶۸ ایزوله اسینتوباکتر بومانی، به این نتیجه رسیدند که ۸۵ ایزوله (۵۰/۵۹ درصد) نسبت به ایمی‌نم مقاوم بودند در میان این ۸۵ ایزوله ۵۷ مورد (۶۷/۰۵ درصد) MBL مثبت داشتند که با تست DDST تشخیص داده شد. با روش CDT ۶۹ ایزوله (۸۱/۱۸ درصد) و با روش MHT نیز ۸۵ ایزوله (۱۰۰ درصد) دارای آنزیم متالوبتالاکتاماز بودند. همه ۸۵ ایزوله با روش E.TEST نیز مورد آزمایش قرار گرفتند و پاسخ مثبت نسبت به MBL نشان دادند (۳۴). در تحقیق حاضر فعالیت کاربپنازی و متالوبتالاکتامازی در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی به روش CDT ۹۶/۲ درصد و ۹۴/۹۳ درصد، به روش DDST ۸۱/۰۷ و ۹۱/۱۳ درصد و به روش MHT برای هر دو آنزیم ۹۱/۱۴ درصد مشاهده شد، همانطور که نشان داده شد بررسی فعالیت متالوبتالاکتامازی و کاربپنازی به روش‌های مختلف نتایج متفاوتی حاصل شده است ولی در مطالعه حاضر هم خوانی بیشتری بین نتایج حاصل از روش‌های مختلف نسبت به مطالعه Aparna مشاهده گردید.

Lee و همکارانش در سال ۲۰۰۳ بر روی سودوموناس و اسینتوباکتر های تولیدکننده آنزیم متالوبتالاکتاماز با استفاده از روش‌های DDST و تست هوج مطالعه نمودند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند از ۷۳ ایزوله مورد آزمایش با روش DDST ۴۵ ایزوله (۶۱/۶۴ درصد) و با روش MHT ۴۱ ایزوله (۵۶/۱۶ درصد) پاسخ مثبت دادند (۳۵).

Jesudason و همکارانش در سال ۲۰۰۵ با مقایسه روش DDST و MHT تولید کاربپناز در ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ۷۲ درصد با روش

۲. بررسی شیوع ژن‌های مختلف کارباپنمازی در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی.
 ۳. بررسی بیان ژن‌های متالوبتالاکتامازی و مقایسه با تست‌های فنوتیپی.
 ۴. بررسی بیان ژن‌های کارباپنمازی و مقایسه با تست‌های فنوتیپی.

- توجه به خطرات عفونت‌های ناشی از اسینتوباکتر بومانی مقاوم در محیط‌های بیمارستانی به‌خصوص بخش مراقبت‌های ویژه پیشنهادت زیر ارائه می‌گردد:
 ۱. بررسی شیوع ژن‌های مختلف متالوبتالاکتامازی در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی.

References:

1. Chaulagain BP, Jang SJ, Ahn GY, Ryu SY, Kim DM, Park G, et al. Molecular epidemiology of an outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying the ISAbal-blaOXA-51-like genes in a Korean hospital. *Jpn J Infect Dis* 2012;65(2):162-6.
2. Lee K, Yong D, Jeong SH, Chong Y. Multidrug-resistant *Acinetobacter* spp.: increasingly problematic nosocomial pathogens. *Yonsei med J* 2011;52(6):879-91.
3. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008;21(3):538-82.
4. Paterson DL, Doi Y. A step closer to extreme drug resistance (XDR) in gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis* 2007;45(9):1179-81.
5. Holten KB, Onusko EM. Appropriate prescribing of oral beta-lactam antibiotics. *Amn Fam physician* 2000;62(3):611-20.
6. Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of β -lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(1): 160-201.
7. Stratchounski LS, Kozlov RS, Rechedko GK, Stetsiuk OU, Chavrikova EP, Group RNS. Antimicrobial resistance patterns among aerobic gram-negative bacilli isolated from patients in intensive care units: results of a multicenter study in Russia. *Clin Microbiol Infect* 1998;4(9):497-507.
8. Joshi SG, Litake GM, Ghole VS, Niphadkar KB. Plasmid-borne extended-spectrum beta-lactamase in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *J Med Microbiol* 2003;52(Pt 12):1125-7.
9. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public health concern. *Lancet Infect Dis* 2008; 8(3): 159-66.
10. Marchiaro P, Ballerini V, Spalding T, Cera G, Mussi MA, Moran-Barrio J, et al. A convenient microbiological assay employing cell-free extracts for the rapid characterization of Gram-negative carbapenemase producers. *J Antimicrob Chemother* 2008;62(2):336-44.
11. Djahmi N, Dunyach-Remy C, Pantel A, Dekhil M, Sotto A, Lavigne JP. Epidemiology of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean Countries. *Biomed Res Int* 2014;2014:305784.
12. Gao J, Zhao X, Bao Y, Ma R, Zhou Y, Li X, et al. Antibiotic resistance and OXA-type carbapenemase-encoding genes in airborne *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wards. *Burns* 2014;40(2):295-9.
13. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR, Committee HICPA. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. *Am J Infect Control* 1999;27(2):97-134.
14. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol* 2006;44(8):2974-6.
15. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:4943-60.
16. Senkyrikova M, Husickova V, Chroma M, Sauer P, Bardon J, Kolar M. *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 detected in the Czech Republic. *SpringerPlus* 2013; 2:296-302.

- 17- Rezaei A, Fazeli H, Moghadampour M, Halaji M, Faghri J. Determination of antibiotic resistance pattern and prevalence of OXA-type carbapenemases among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from inpatients in Isfahan, central Iran. *Le Infezioni in Medicina* 2018;1:61-6.
18. Eyvazi Sh, Hakemi-Vala M, Hashemi A, Bagheri Bejestani F, Elahi N. Emergence of NDM-1-Producing *Escherichia coli* in Iran. *Arch Clin Infect Dis* 2018; 13(4)
19. Bergogne-Berezin E, Towner K. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:148-65.
20. Van Hoek AH, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts AP, Aarts HJ. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Front Microbiol* 2011;2:203.
21. Abdollahiasl A, Kebriaeezadeh A, Nikfar S, Farshchi A, Ghiasi G, Abdollahi M. Patterns of antibiotic consumption in Iran during 2000–2009. *Int J Antimicrob Agents* 2011;37(5):489-90.
22. Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. *New Engl J Med* 2008;358(12):1271-81.
23. Custovic A, Smajlovic J, Tihic N, Hadzic S, Ahmetagic S, Hadzagic H. Epidemiological Monitoring of Nosocomial Infections Caused by *Acinetobacter Baumannii*. *Med Arh* 2014;68(6):402.
24. Ibaneze M, Mejias M, Pichardo C, Lianos A, Pachon J. Activity of Tigecycline (Gar-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, Including those resistant to Imipenem. *Antimicrobe chemother* 2004; 48(11):4479-81.
25. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother* 2012;67(7):1607-15.
26. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Value of the modified Hodge test detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 2012;50(2):477–9.
27. Nazari Monazam A, Hosseini Doust S R, Mirnejad R. Prevalence PER and VEB beta-lactamase Genes among *Acinetobacter baumannii* Isolated from Patients in Tehran by PCR. *Iran J Med Microbiol* 2015; 8 (4):28-35.
28. Irfan S, Zafar A, Guhar D, Ahsan T, Hasan R. Metallo-β-lactamase-producing clinical isolates of *Acinetobacter* spp and *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care unit patients of a Tertiary care Hospital. *Indian J Med Microbiol* 2008;26(3):243–5.
29. Shin KS, Son BR, Hong SB, Kim J. Dipicolinic acid-based disk methods for detection of metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;62(1):102–5
30. Goudarzi H, Hashemi A, Fallah F, Noori M, Erfanimesh S, Yosefi N, et al., Detection of blaDIM, blaAIM, blaGIM, blaNDM and blaVIM Genes among *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospitalized patients in Tehran hospitals, *Iran J Med Microbiol* 2016; 9 (4):32-39.
31. Morsi SS. Comparative evaluation of phenotypic and genotypic detection of carbapenem resistant *K. pneumoniae*. *Almenhal* 2016;25(1):109-16.
32. Haji Hashemi B, Farzanehkhah M, Dolatyar A, Imani M, Farzami MR, Rahbar M, et al. A study on prevalence of KPC producing from *Klebsiella pneumoniae* using Modified Hodge Test and CHROMagar in Iran. *Ann Biol Res* 2012;3(12):5659-64.
33. Bialvaei AZ, Kafil HS, Asgharzadeh M, Yousef Memar M, Yousefi M. Current methods for the identification of carbapenemases. *J Chemotherapy* 2016;28(1):1-9.
34. Aparna Sh, Beena A, Poornima Sh. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Metallo-β-Lactamase and Carbapenemase Production in *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(5):5.

35. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the Imipenem-EDTA Double-Disk Synergy Test for Differentiating Metallo- β -Lactamase Producing Isolates of *Pseudomonas* spp and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2003;41(10):4623-9.
36. Jesudasan MV, Kandathil AJ, Balaji V. Comparison of two methods to detect Carbapenemase and Metallo- β -lactamase production in clinical isolates. *Indian J med Res* 2005;121:780-3.
37. Amudhan SM, Sekar U, Arunagiri K, Sekar B. OXA Beta-lactamase-mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Indian J Med Microbiol* 2011;29(3):269-74.
38. John S, Balagurunathan R. Metallo beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Indian J Med Microbiol* 2011;29(3):302-4.
39. Fallah F, Hakemivala M, Hashemi A, Shams S. Emergence of novel plasmid-mediated beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* (REVIEW ARTICLE). *Qom Univ Med Sci J* 2013;4(24):104-16

FREQUENCY OF CARBAPENEMASE AND METALLO-BETA-LACTAMASE RESISTANCE AND OXA- 48, OXA-23, AND NDM GENES IN CLINICAL ISOLATES OF *ACINETOBACTER BAUMANNI* IN 2017

Bahman Azhari¹, Fatemeh Noorbakhsh^{*2}, Maryam Eid³

Received: 14 October 2020; Accepted: 18 March, 2021

Abstract

Background & Aims: One of the most important problems in treatment centers is the infectious diseases caused by antibiotic resistant *Acinetobacter Baumanni*. This study aimed to isolate and identify carbapenemase and metallo-beta-lactamase producing strains using phenotypic and molecular methods.

Materials & Methods: In this study 79 strains of *Acinetobacter Baumanni* were isolated from patients hospitalized in Tehran Heart Hospital and identified by biochemical tests. Antibiotic susceptibility of isolates was performed by disc diffusion method. Phenotypic methods such as combined disk test (CDT), double disk synergy test (DDST), and Modified Hodge test (MHT) were performed to identify carbapenemase and metallo-beta-lactamase activity. PCR was performed using specific primers for OXA- 48, OXA-23, and NDM genes.

Results: In this study, the highest resistance in *A. baumannii* was observed to imipenem and ertapenem by disk diffusion method. By CDT, 96.2% of isolates showed carbapenemase activity and 94.93% showed metallo-beta-lactamase activity in presence of imipenem. Also, by DDST, 86.07% and 91.13% of isolates showed Carbapenemase and metallo-beta-lactamase activity, respectively, and 91.14% of isolates were positive by MHT. The molecular method showed that OXA-48 gene was in 100% of isolates and OXA-23 gene was in 98.73% of isolates and NDM gene did not exist in isolates.

Conclusion: Based on the results, CDT has high susceptibility in other phenotypic methods for identifying carbapenemase and metallo-beta-lactamase activity. Frequency of OXA-48 and OXA-23 genes revealed antibiotic resistance in *A. baumannii* isolates.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Carbapenemas, Metallo-beta-lactamase, combined disk test (CDT), double disc synergy test (DDST), Modified Hodge test (MHT)

Address: Department of Microbiology, Biological Science College, Varamin-pishva branch, Islamic Azad University, Varamin-Pishva, Iran

Tel: +989122043654

Email: niloofar_noorbakhsh@yahoo

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(2): 104 ISSN: 2717-008X

¹ Department of Microbiology, Biological Science College, Varamin-pishva branch, Islamic Azad University, Varamin-Pishva, Iran

² Department of Microbiology, Biological Science College, Varamin-pishva branch, Islamic Azad University, Varamin-Pishva, Iran (Corresponding Author)

³ Department of Biology, Biological Science College, Varamin-Pishva branch, Islamic Azad University, Varamin-Pishva, Iran