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

بهمن اظهری[۱]، فاطمه نوربخش[۲*]، مریم عیدی[۳]

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۰۸/۲٤ 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 سفتازیدیم 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 پلیمراز جهت تعیین وجود ژن‌های *OXA-48*، *OXA-23* و *NDM* انجام شد.

یافته‌ها: در این مطالعه بیشترین مقاومت در *اسینتوباکتر بومانی* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی پنم و ارتاپنم به روش انتشار در دیسک مشاهده شد. با روش دیسک ترکیبی ۹۶/۲ درصد ایزوله‌ها نسبت به ایمی‌پنم، 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 سینرژیسم دیسک دوتایی، روش اصلاح‌شده هاج

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره دوم، ص ۱۰٤-۹۲، اردیبهشت ۱٤۰۰

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

Email: niloofar_noorbakhsh@yahoo

مقدمه

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

یکی از ویژگی‌های قابل‌توجه این ارگانیسم 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 ارگانیسم ایجاد کرده است (۳).

[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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

در سال‌های اخیر به سبب افزایش روزافزون مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف سویه‌هایی از این ارگانیسم با الگوی مقاومت دارویی چندگانه Multi Drug Resistance (MDR) ظهور کرده‌اند. ارگانیسم‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه به ارگانیسم‌هایی اطلاق می‌گردد که حداقل به ۳ کلاس آنتی‌بیوتیکی مهم و مصرفی ازجمله 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 کارباپنم‌ها اشاره کرد (۶).

کارباپنم‌ها 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 آنزیم‌های غیرفعال کننده آنتی‌بیوتیک‌ها مانند: بتالاکتامازها، سفالوسپورینازها، کارباپنمازها، موتاسیون در ژن‌های کد کننده پروتیئن‌های 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 کارباپنم‌ها و سفالوسپورین‌های نسل سوم به شمار می‌روند (۸،۹). بتالاکتامازهای کلاس B متالوبتالاکتامازها دارای اتم روی در جایگاه فعال می‌باشند. این آنزیم‌ها برخلاف سرین بتالاکتامازها وابستگی پائینی به منوباکتام‌ها دارند و به‌وسیله کلاولانیک 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)

کارباپنمازهای کلاس D یا اگزاسیلیناز، بتالاکتامازهایی هستند که در جایگاه فعال آنزیم اسیدامینه سرین دارند و کارباپنمازهای OX-type (OTC) نامیده می‌شوند. اگرچه (OTC) ها فعالیت کاتالیتیکی کمتری نسبت به متالوبتالاکتام‌ها دارند، اما به‌عنوان یک پتانسیل خطرناک بررسی می‌شوند و شایع‌ترین کارباپنمازهای اسینتوباکتربومانی هستند. اولین (OCT) دراسینتوباکتربومانی 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 آنزیم کارباپنماز مهم‌ترین مکانیسم مقاومت نسبت به کارباپنم محسوب می‌شود، این آنزیم‌ها بر روی عناصر ژنتیکی متحرک نظیر پلاسمیدها قرار گرفته‌اند و به‌سرعت در بین باکتری-های گرم منفی منتشر می‌گردند (۱۲).

داروهای گروه کارباپنم تا سال‌های اخیر، برای درمان قطعی و نهایی عفونت‌های باکتری‌های گرم منفی مورداستفاده قرار می‌گرفت، ظهور مقاومت به این داروها، زنگ خطری جدی در درمان این عفونت‌ها می‌باشد (۱۳). شناسایی آنزیم‌های کارباپنماز با استفاده از روش‌های معمول آزمایشگاهی دیسک دیفیوژن آگار مشکل می‌باشد، بنابراین احتمال خطا در گزارش الگوی آنتی بیوگرام این نوع باکتری‌ها توسط مراکز درمانی وجود دارد. اما می‌توان این آنزیم‌ها را به روش ژنوتیپی PCR به‌طور دقیق و قابل‌اعتماد بررسی نمود (۱۴).

جهت بررسی تولید آنزیم‌های کارباپنماز و متالوبتالاکتاماز از باکتری *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از نمونه‌های بالینی، روش‌های مختلف ازجمله تست MHT، آزمون‌های دیسک ترکیبی، دیسک دوتایی و دیسک دیفیوژن استفاده می‌گردد (۱۵).

هدف از این مطالعه جداسازی و شناسایی سویه‌های تولیدکننده آنزیم کارباپنماز و متالوبتالاکتاماز و بررسی وجود ژن‌های *OXA-48*، *OXA-23* و *NDM* در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده 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 بلادآگار 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 سیترات، اوره آز، کاتالاز، اکسیداز) جهت تشخیص باکتری‌ها انجام شد و ۷۹ سویه *اسینتوباکتر 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 سفتازیدیم (۱۰ میکروگرم)، (شرکت پاتن طب ایران) انجام شد. ابتدا از باکتری‌های مورد مطالعه سوسپانسیونی با کدورتی برابر با کدورت نیم مک فارلند تهیه شد، سپس به کمک سوآپ از سوسپانسیون

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

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 میلی متر اندازه گرفته شد و طبق استاندارد CLSI(۲۰۱۷) به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش شدند.

تست دیسک ترکیبی (CDT)[1]:

برای این کار ابتدا محلول فنیل برونیک اسید (Aldrich,Sigma) در DMSO با غلظت□□/□□ ۲۰ تهیه شد سپس ۲۰µl 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 *اسینتوباکتر 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. پلیت ها 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 کارباپنماز است (KPC). اگرقطر 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 سینرژیسم دیسک دوتایی (DDST)[2]:

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 *اسینتوباکتر 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، پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. افزایش هاله عدم رشد بین کارباپنم‌ها و دیسک حاوی بازدارنده فنیل برونیک اسید به‌عنوان نتیجه مثبت (KPC) در نظر گرفته می‌شود. آزمایش فوق برای بازدانده (EDTA) جهت تعیین MBL نیز انجام شد (۲۸،۲۹).

بررسی فعالیت کارباپنمازی با روش فنوتیپی MHT[3]:

ابتدا سوسپانسیون باکتریایی با غلظت ۰/۵ مک فارلند از Ecoli ATCC۲۵۹۲۲ در مولر هینتون براث 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 *اسینتوباکتر بومانی* به صورت خط مستقیم از لبه دیسک تا کناره‌های پلیت کشت داده شد. پلیت ها 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 ازمحل رشد *Ecoli* ATCC۲۵۹۲۲ 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 کارباپنم‌ها OXA-*48* و*OXA-23* و همچنین ژن متالوبتالاکتاماز NDM[4] آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) انجام شد. در این بررسی از اسینتوباکتر بومانی ATCC 19606 به‌عنوان کنترل استفاده شد.

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	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC CGGAATGGCTCATCACGATC	621	57	18

[1] Combined Disk Test

[2] Double Disk Synergy Test

[3] Modified Hodge Test

[4] New Delhi Metalo betalactamase

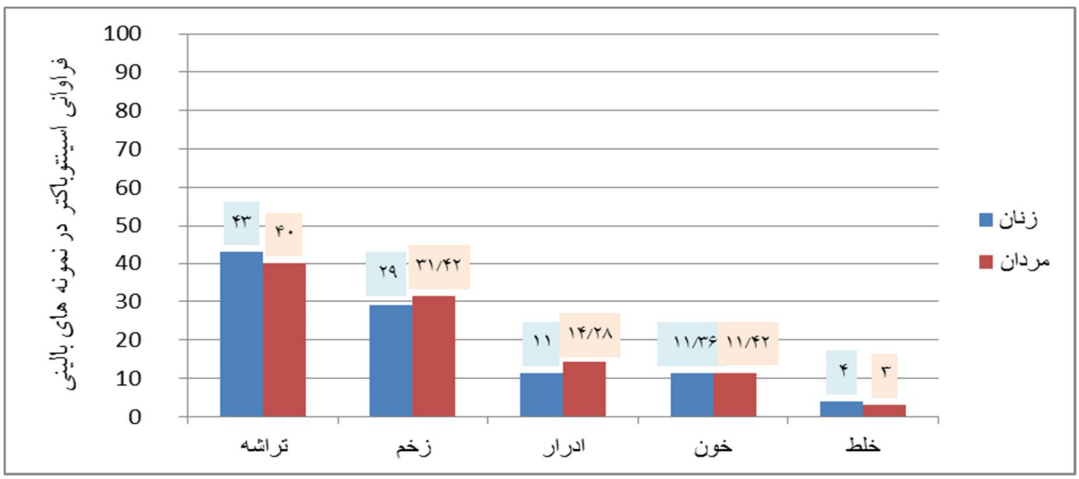
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

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 مستر 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 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.



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

نتایج حاصل از آنتی بیوگرام با روش دیسک دیفیوژن:

آنالیز تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در این مطالعه نشان داد که *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از بیماران دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه بودند. فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نمودار ۲ نشان داده شده است.

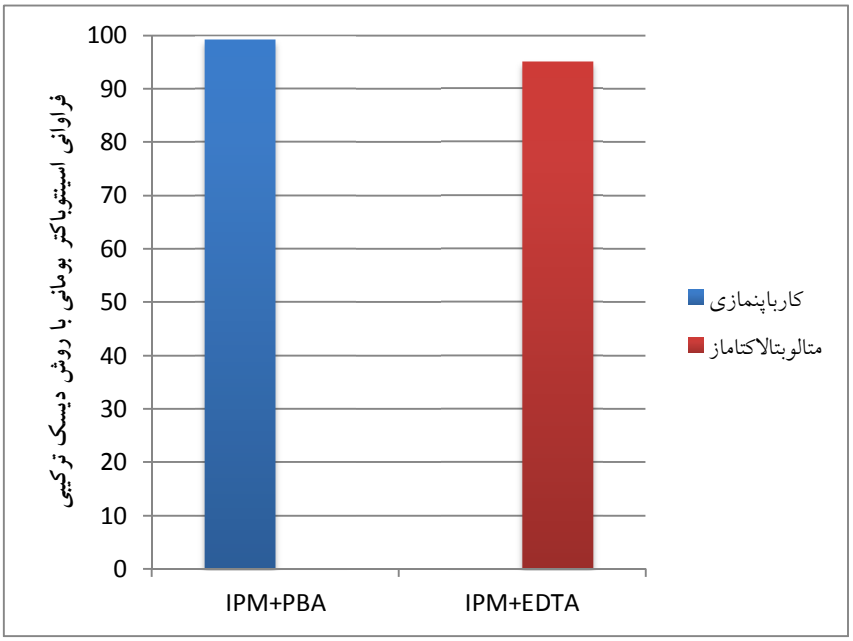
نمودار (۲): تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

نتایج حاصل از روش دیسک ترکیبی:

برای مقایسه فعالیت کارباپنمازی 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 کارباپنماز 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 کارباپنماز به روش دیسک ترکیبی ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P<0.05$).

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



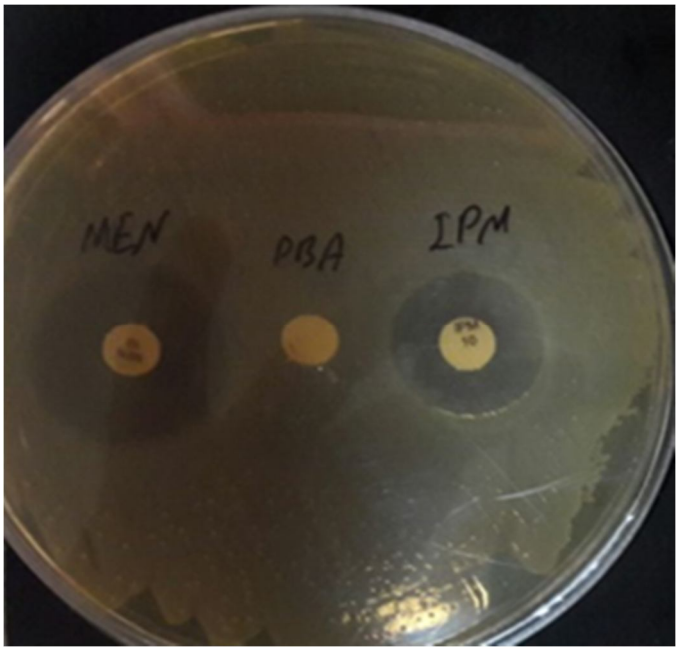
نمودار (۳): فراوانی فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی به روش دیسک ترکیبی

نتایج حاصل از روش سینرژیسم دیسک دوتایی (DDST):

نتایج به دست آمده بررسی فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی به روش سینرژیسم دیسک دوتایی نشان داد که ایزوله‌های *اسینتوباکتر 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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

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



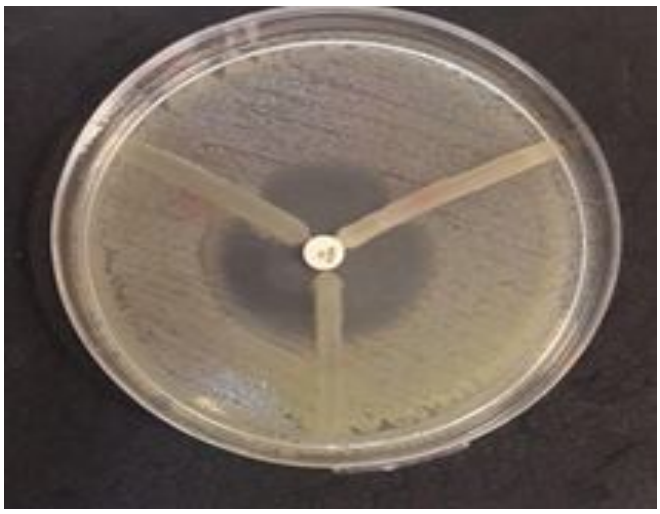
شکل (۲): تعیین فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی به روش سینرژیسم دیسک دوتایی

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

نتایج حاصل از روش فنوتیپی تست هوج اصلاح شده (MHT):

۷۹ سویه *اسینتوباکتر بومانی* مورد مطالعه به روش هوج اصلاح 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).

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

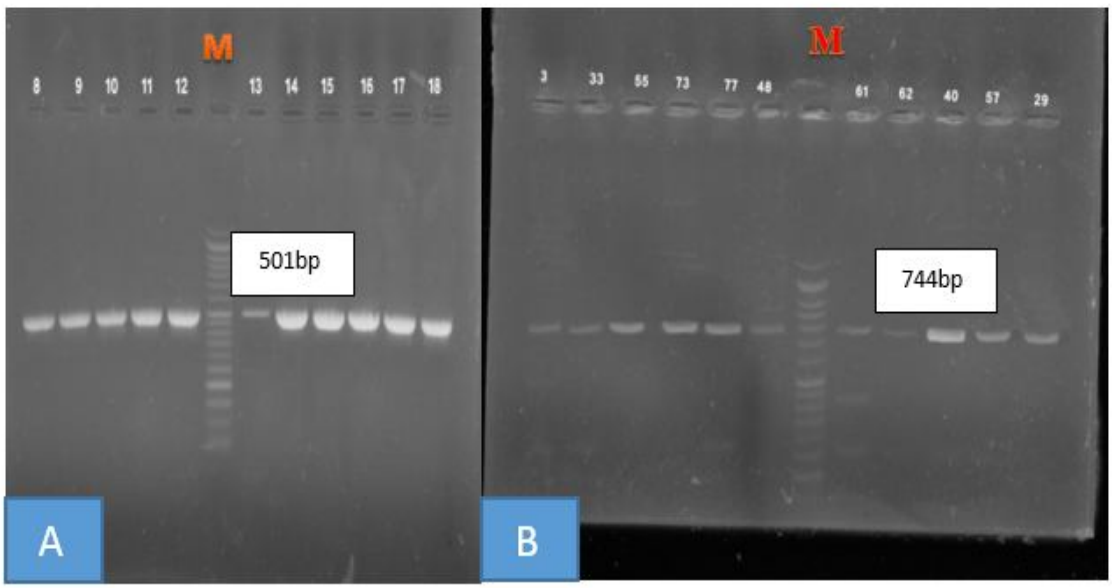


شکل (۳): تعیین فعالیت کارباپنمازی به روش تست هاج اصلاح شده (MHT)

در بررسی آماری انجام شده مشخص شد، بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به دیسک ایمی پنم 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 ژن‌های OXA-48، OXA-23 و NDM مورد بررسی قرار گرفتند. همه ۷۹ سویه (۱۰۰ درصد) باندی به اندازه bp ۷۴۴ تشکیل دادند که نشان می‌دهد همه سویه‌ها دارای ژن OXA-48 می‌باشد. ۷۸ سویه (۹۸/۷۳ درصد) باندی به اندازه bp ۵۰۱ 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 باندی تشکیل ندادند و فاقد ژن NDM می‌باشند (شکل ۴).



شکل (۴): محصول PCR A) نمونه‌های تکثیر شده با اندازه ۵۰۱ جفت باز دارای ژنOXA-23 وB) نمونه‌های تکثیر شده با اندازه ۷۴۴ جفت باز دارای ژن OXA-48، M: DNA ladder 50bp

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

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 کارباپنم به صورت فراوان در ایزوله‌های کلینیکی دیده شده است (۲۵ و ۲۳) در حالی که برخی مطالعات اروپایی مقاومت کمتری را نسبت به کارباپنم‌ها 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 استانداردی در دسترس نیست در نتیجه استاندارد سازی یک روش فنوتیپی برای غربال گیری ایزوله‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. چندین روش غربال گری برای شناسایی باکتری‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز بر پایه ممانعت از فعالیت متالوبتالاکتاماز توسط عوامل شلاته کننده همچون EDTA، معرفی شده است. آزمون‌های دیسک مبتنی بر مهار کننده‌های متالوبتالاکتاماز در ترکیب با کارباپنم‌ها می‌تواند برای *اسینتوباکتر بومانی* به دلیل تأثیر غیر اختصاصی مهار کننده‌ها بر سلول باکتری اختصاصیت داشته باشد. EDTA، مانند بسیاری شلاته کننده‌های 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 کارباپنمازی 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 ایزوله‌ی بالینی *اسینتوباکتر بومانی* جمع آوری 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 کارباپنماز 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 کارباپنماز بودند (۲۸).

اطلاعات قبلی پیشنهاد می‌کنند که در روش سینرژیسم، دیسک بلانک حاوی فنیل برونیک اسید در کنار ایمی پنم و مروپنم برای شناسایی ایزوله‌های تولیدکننده کارباپنماز 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 غربال گیری مفید باشد (۲۹). در مطالعه انجام شده با روش سینرژیسم، ۸۶/۰۷ درصد سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* مورد بررسی دارای کارباپنماز 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 کارباپنماز است که توسط CLSI توصیه می‌شود. اصل مهم این روش غیرفعال سازی کارباپنماز توسط سلول‌ها یا عصاره سلولی ارگانیسم‌های تولیدکننده کارباپنماز است. این تست برای شناسایی مکانیسم، حساس و مناسب است. با این حال، در این روش جزئیات نوع کارباپنماز 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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

غربال گیری فنوتیپی برای باکتری‌های حساس به کارباپنم است و دارای حساسیت و اختصاصیت بالا (۹۰ درصد<) در شناسایی کارباپنمازهای 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 کارباپنمازهای 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 کارباپنماز 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 کارباپنماز تولید شده در ۱۶۸ ایزوله *اسینتوباکتر بومانی*، به این نتیجه رسیدند که ۸۵ ایزوله (۵۰/۵۹ درصد) نسبت به ایمی پنم مقاوم بودند در میان این ۸۵ ایزوله ۵۷ مورد (۶۷/۰۵ درصد) MBL مثبت داشتندکه 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 کارباپنمازی 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 روشMHT برای هر دو آنزیم ۹۱/۱۴ درصد مشاهده شد، همانطور که نشان داده شد بررسی فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی 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 کارباپنماز در ایزوله‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ۷۲ درصد با روش DDST و ۵۶ درصد با روش MHT دارای آنزیم کارباپنماز 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 کارباپنماز 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 کارباپنماز کردند و ۱۱۳ (۹۷/۴ درصد) ایزوله به روش MHT فعالیت کارباپنمازی 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 وتایید 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 کاباپنماز 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 ایمی پنم، ارتاپنم و سفتازیدیم مشابه بود و از مقاومت آنتی‌بیوتیکی مروپنم وسفوتاکسیم 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 کارباپنمازی و متالوبتالاکتامازی نسبت به دیسک دوتایی می‌باشد. با

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

توجه به خطرات عفونت‌های ناشی از اسینتوباکتر بومانی مقاوم در محیط‌های بیمارستانی به‌خصوص بخش مراقبت‌های ویژه پیشنهادات زیر ارائه می‌گردد:

۱. بررسی شیوع ژن‌های مختلف متالوبتالاکتامازی در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی.

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.

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 ISAba1-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. Clinic Microbio Rev 2010; 23(1): 160-201.

7. Stratchounski LS, Kozlov RS, Rechedko GK, Stetsiouk 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 publichealth 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 carbapenemases-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 Chemother2011;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.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

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, PachonJ. Activity of Tigecycline (Gar-936) against Acinetobacter baumannii strains, Including those resistant to Imipenem. Antimicrobe chemothet 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 modier 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-ß-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, Erfanimanesh S, YosefiN, 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. pneumonia. 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.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

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 Cli Microbiol 2003;41(10):4623–9.

36.Jesudasan MV, Kandathil AJ, Balaji V. Comparison of two methods to detect Carbapenemase and Metallo-β.0-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. Emergenece of novel plasimid-mediated beta-lactamase in Klebsiella pneumoniae (REVIEW ARTICLE). Qom Univ Med Sci J 2013;4(24):104-16

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]

Original Article

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 Azhari[1], Fatemeh Noorbakhsh[*2], Maryam Eidi[3]

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 Bumanni*. 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 Bumanni* 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. baumanii* 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. baumanii* isolates.
Keywords: *Acinetobacter baumanii*, 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*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-05-29]