Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 35, No. 3, Autumn 2025 ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of prevalence of colistin and fosfomycin resistance genes in the clinical *Acinetobacter baumannii* isolates producing carbapenemase and ESBL

Maryam Nikbakht[1], Mohammad Karim Rahimi[1], Samin Taghizadeh Marand[1], Seyyed Khalil Shokouhi Mostafavi[1]
[1] Department of Microbiology, TeMS.C, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: There are many reports of antibiotic resistance in ESBL (Extended Spectrum Beta-Lactamase) producing strains of *Acinetobacter baumannii* including cephalosporins from all over the word. This research aimed to determine the frequency of colistin-resistant genes (*mcr-2, mcr-1*) and fosfomycin-resistant genes (*fos A3*) in ESBL-producing and carbapenem-resistant *A. baumannii* strains.
Materials and methods: *Acinetobacter baumannii* isolates collected from selected hospitals in Tehran were confirmed by detecting the bla OXA-51-lik gene using PCR. Antibiograms were performed using the disk diffusion method, and the combined disk method was used to identify ESBL-producing isolates. The minimum inhibitory concentration (MIC) for colistin was obtained using the E-test. The presence of colistin (mcr-1, mcr-2) and fosfomycin (fosA3) resistance genes was evaluated using PCR.
Results: Of 219 clinical isolates of *A. baumannii*, 71 isolates with ESBL and carbapenem resistance were detected. The 100% of *A. baumannii* isolates were resistant to cephalosporins and piperacillin. The antibiotic resistance to ciprofloxacin, amikacin, gentamicin was evaluated at 87.3%, 71.8%, and 67.6%, respectively. The ESBL-producing and carbapenem-resistant isolates were 100% sensitive to colistin, fosfomycin and tigecycline. In these strains, *fosA3, mcr-1*, and *mcr-2* genes were not detected.
Conclusion: In the present study, common genes that cause resistance to the antibiotics fosfomycin and colistin were not observed among ESBL-producing and carbapenem-resistant *A.baumannii* isolates. Therefore, prescribing these antibiotics is still effective and their excessive use should be avoided.
Keywords: *Acinetobacter baumannii, ESBL, Carbapenem resistant.*

Cited as: Nikbakht M, Rahimi MK, Taghizadeh Marand S, Shokouhi Mostafavi SK. Evaluation of prevalence of colistin and fosfomycin resistance genes in the clinical Acinetobacter baumannii isolates producing carbapenemase and ESBL. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2025; 35(3): **314-322.**

Correspondence to: Seyyed Khalil Shokouhi Mostafavi
Tel: *+98 2122006660*
E-mail: shokouhi@iautmu.ac.ir
ORCID ID: 0000-0002-6227-3376
Received: 20 Oct 2024; **Accepted:** 1 Jan 2025

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-09-09]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.7.7]

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۵، شماره ۳، پاییز۱۴۰۴، صفحات ۳۱۴ تا ۳۲۲

Original Article

بررسی فراوانی ژن‌های مقاومت به کولیستین و فسفومایسین در جدایه‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* تولیدکننده کارباپنماز و ESBL

مریم نیک بخت[۱]، محمدکریم رحیمی[۱]، ثمین تقی زاده مرند[۱]، سید خلیل شکوهی مصطفوی[۱]

[۱] گروه میکروبیولوژی، واحدعلوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *مواردی از مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های متعدد توسط جدایه‌های اسینتوباکتربومانی تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL) ازجمله سفالوسپورین‌ها از سراسر دنیا گزارش می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی ژن‌های مقاومت به کولیستین (mcr-1، mcr-2) و فسفومایسین (fosA3) در بین جدایه های اسینتوباکتربومانی تولید کننده ESBL و کارباپنماز انجام شد.*

روش بررسی: *جدایه‌های اسینتوباکتربومانی جمع آوری شده از بیمارستان‌های منتخب تهران، با ردیابی ژن bla OXA-51-lik با تکنیک PCR مورد تائید قرارگرفتند. آنتی بیوگرام با روش انتشار دیسک انجام شد و جهت شناسایی جدایه های مولد ESBL روش دیسک ترکیبی استفاده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) برای کولیستین با استفاده از E-test بدست آمد. با استفاده از تکنیکPCR حضور ژن‌های مقاومت به کولیستین (mcr-1، mcr-2) و فسفومایسین (fosA3) مورد ارزیابی قرارگرفت.*

یافته‌ها: *از ۲۱۹ جدایه بالینی اسینتوباکتر بومانی، ۷۱ جدایه تولیدکننده ESBL و مقاوم به کارباپنم شناسایی شدند. نتایج آنتی بیوگرام، نشان دهنده مقاومت ۱۰۰٪ باکتری نسبت به سفالوسپورین‌ها بود. جدایه‌های تولیدکننده ESBL و مقاوم به کارباپنم، به کولیستین، فسفومایسین و تیگسایکلین حساس بودند. نتایج، بیانگر عدم حضور ژن‌های mcr-1، mcr-2 و fosA3در بین جدایه های اسینتوباکتربومانی تولیدکننده ESBL و کارباپنماز بود.*

نتیجه‌گیری: *در مطالعه حاضر، ژن‌های شایع مولد مقاومت به آنتی بیوتیک‌های فسفومایسین و کولیستین در بین جدایه‌های اسینتوباکتربومانی تولیدکننده ESBL و مقاوم به کارباپنم مشاهده نشد. لذا در حال حاضر تجویز این آنتی بیوتیک‌ها نتیجه بخش است و از مصرف بی رویه آنها نیز باید پرهیز شود.*

واژگان کلیدی: *اسینتوباکتر بومانی، بتالاکتامازهای وسیع الطیف، مقاومت به کارباپنم‌ها.*

مقدمه

امروزه به طور کلی می‌توان اظهار کرد که وجود سویه‌های باکتری مقاوم به آنتی بیوتیک از مهم‌ترین عوامل بوجود آمدن عفونت‌های مشکل‌ساز در علم پزشکی است. از شایع‌ترین عفونت‌های بیمارستانی می‌توان به پاتوژن‌های گروه ESKAPE اشاره کرد، که شامل باکتری‌های Klebsiella pneumoniae، Enterococcus faecium ،Pseudomonas aeruginosa، Staphylococcus aureus ،Enterobacter spp و Acinetobacter baumanni می‌شود. این گروه منجر به بیش از ۹۸ درصد از عفونت‌های بیمارستانی می‌شوند (۱, ۲). یکی از عوامل مهم عفونت بیمارستانی اسینتوباکترها هستند. این باکتری‌ها در دسته باکتری‌های گرم منفی هستند که به دلیل عواملی همچون مقاوم شدن به طیف گسترده‌ای از آنتی بیوتیک‌ها قدرت بقای طولانی، وجود این باکتری‌ها در محیط نگرانی‌های فراوانی ایجاد کرده است (۳, ۴). بقای این

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحدعلوم پزشکی تهران، دانشکده علوم و فناوری پیشرفته، گروه میکروبیولوژی، سید خلیل شکوهی مصطفوی (**email**: shokouhi@iautmu.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0002-6227-3376
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۷/۲۹
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱۰/۱۲

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-09-09]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.7.7]

باکتری‌ها در محیط بیمارستان از یک طرف، توانایی بیماری‌زایی و فاکتورهای ویرولانس متنوع از سوی دیگر و مقاومت آنتی بیوتیکی بالا منجر می‌شود تا این باکتری‌ها به عنوان یکی از عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی شناخته شوند که درمان آن‌ها سخت است و می‌تواند زندگی بیماران را در معرض خطر قرار بدهد (۵, ۶).

این باکتری به مانند دیگر باکتری‌های گرم منفی توانایی به به دست‌آوردن مکانیسم‌های جدید مقاومت را از طریق پلاسمیدها، اینتگرون‌ها و ترانسپوزون‌ها دارد. درحال حاضر، توسعه ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیک از راه ساختارهای اینتگرون با تولید مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی چندگانه، به یک معضل مهم، در درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری ها، تبدیل شده است. به همین دلیل می‌توان گفت ظهور گونه‌های مقاوم این باکتری‌ها به انواع داروها به مهم‌ترین مشکل پیش روی سیستم درمانی و بهداشتی در بیمارستان‌ها تبدیل شده‌است (۳, ۷).

کاربا‌پنم‌ها داروی انتخابی برای درمان اسینتوباکتر بومانی دارای مقاومت دارویی چندگانه (MDR) بودند که نخستین بار در ایالات متحده در سال ۱۹۹۱، گزارش مقاومت اسینتوباکتر به آنتی بیوتیک کاربا‌پنم، نگرانی همگان را برانگیخت. امروزه ایزوله‌های مولد آنزیم های مختلف مثل متالوبتالاکتاماز و کاربا‌پنماز گزارش شده‌اند (۸).

bla OXA-51 like یک ژن ذاتی در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی است که حضور این ژن به تنهایی در مقاومت باکتری‌ها نسبت به کاربا‌پنم ها نقشی ندارد. زمانی که این ژن در امتداد توالی الحاقی ISAba1 و یا توالی‌های الحاقی مشابه دیگر بیان گردد، توانایی ایجاد مقاومت نسبت به کاربا‌پنم ها را پیدا می‌کند (۹). اولین بار ژن bla OXA-23 like در جدایه‌های بالینی جداسازی شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های کشور اسکاتلند شناسایی شد و پس از آن در دیگر کشورهای دنیا به مانند ایران نیز شناسایی شد (۸). در بیمارستان‌های ایالات متحده آمریکا فراوانی اسینتوباکتر بومانی که به کاربا‌پنم‌ها مقاوم هستند بین ۳۳ تا ۵۸ درصد است و در اکثر نقاط دنیا به خصوص ایران نیز درصد بالایی را شامل می‌شود که سیاست‌های درمانی بسیار کمی مثل استفاده از کولیستین تنها راه باقی مانده است (۱۰).

هدف از مطالعه حاضر، تعیین میزان مقاومت به کولیستین و فسفومایسین در جدایه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی تولیدکننده کاربا‌پنماز و ESBL به منظور تجویز منطقی و معقولانه آنتی بیوتیک‌های مناسب در بخش‌های مختلف بیمارستان جهت کاهش مصرف بی رویه آنتی بیوتیک‌ها و هزینه‌های درمانی که بسیار حائز اهمیت است، می‌باشد.

مواد و روشها

نمونه گیری و تعیین هویت باکتری‌ها

در این تحقیق ۲۱۹ جدایه *اسینتوباکتر بومانی* از نمونه‌های بالینی (خون، زخم و خلط) از بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران (فرهیختگان، بوعلی و امیرالمومنین) در طی سال های ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۰ جمع آوری شد. به منظور حصول اطمینان از صحت انتخاب، کشت میکروبی در محیط‌های مک کانکی آگار، بلاد آگار و بررسی لام میکروسکوپی با رنگ آمیزی گرم، انجام تست‌های مختلف بیوشیمیایی مانند مصرف قندها در محیط‌های OF(Oxidative-Fermentative) و TSI(Triple Sugar Iron Agar)، تست‌های اندول، حرکت، متیل رد (MR)، ووگس پروسکوئر (VP) و سیمون سیترات آگار صورت گرفت (۱۱). از ژن *OXA51* به عنوان مارکر ژنتیکی جهت تایید قطعی جدایه‌ها به عنوان *اسینتوباکتر بومانی* در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) استفاده شد (۹). جهت اطمینان از صحت آزمایشات تاییدی از سویه کنترل مثبت *اسینتوباکتربومانی* ATCC17978 خریداری شده از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران استفاده شد. پس از تائید شناسایی، جدایه‌ها در محیط TSB و گلیسرول در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

کد اخلاق پژوهشی اخذ شده برای پروژه حاضر IR.IAU.PS.REC.1399.212 بود.

تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی

جهت بررسی الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی از روش دیسک اگار دیفیوژن (Kirby-Bauer) و بر اساس دستورالعمل‌های (CLSI 2023) Clinical and Laboratory Standard Institute استفاده شد (۱۲). دیسک‌های آنتی بیوتیک مورد استفاده، شامل آمیکاسین (۳۰gμ)، سفیپیم (۳۰gμ)، سفوتاکسیم (۳۰gμ)، سفتازیدیم (۳۰gμ)، سفتریاکسون (۳۰gμ)، سفیکسیم (۵gμ)، سیپروفلوکساسین (۵gμ) ،جنتامیسین (۱۰gμ)، پیپراسیلین (۱۰۰gμ) ,تتراسیکلین (۳۰gμ)، تیکارسیلین

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-09-09]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.7.7]

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR

نام ژن	توالی پرایمر(3'—5')	طول توالی (bp)	Tm (C^0)	منبع
bla $_{OXA-51-lik}$	F: TAATGCTTTGATCGGCCTTG R: TGGATTGCACTTCATCTTGG	۳۵۳	۵۹	(۱۶)
fosA3	F: CCTGGCATTTTATCAGCAGT R: CGGTTATCTTTCCATACCTCAG	۲۷۱	۵۰	(۱۷)
mcr-1	F: CGGTCAGTCCGTTTGTTC R: TGCTTAATCAGTGAGGCACC	۴۰۰	۵۸	(۱۸)
mcr-2	F: TGGTACAGCCCCTTTATT R: GCTTGAGATTGGGTTATGA	۱۶۲۶	۵۷	(۱۸)

(۷۵gµ)، مروپنم (۱۰gµ)، ایمی پنم (۱۰gµ)، فسفومایسین (۲۰۰gµ)، تیگه سایکلین (۱۵gµ) (شرکت پادتن طب، ایران) بودند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد و نتایج برای هر آنتی بیوتیک مطابق با دستورالعمل‌های CLSI به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش شدند. همچنین برای تعیین MIC، از نوارهای E-Test آنتی بیوتیک کولیستین استفاده شد. سپس قطر هاله عدم رشد با عدد روی نوار مطابقت داده شد و براساس دستورالعمل-های CLSI میزان مقاومت تمامی جدایه‌ها نسبت به کولیستین تعیین شد (۱۳).

بررسی فنوتیپی تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) به روش Combined Disk Test و کارباپنماز

روش دیسک ترکیبی با استفاده از دیسک سفتازیدیم (۳۰gµ) به تنهایی و دیسک ترکیبی سفتازیدیمµ (۳۰g) - کلاوولانیک اسید(۱۰gµ) برای شناسایی ESBLها بر روی پلیت حاوی مولر هینتون آگار با مطابقت با کدورت سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. افزایش قطر هاله عدم رشد بیشتر یا مساوی ۵ میلی متر در اطراف دیسک ترکیبی سفتازیدیم-کلاوونیک اسید در مقایسه با دیسک سفتازیدیم تنها نشان دهنده تولید بتالاکتاماز وسیع الطیف است (۱۴). جهت شناسایی جدایه‌های تولید کننده آنزیم کارباپنماز، ابتدا ۲ میکرولیتر محیط مولر هینتون براث (MHB) را درون میکروتیوپ استریل ریخته و به آن ۱ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری به مقدار نیم مک فارلند اضافه کرده وتوسط سمپلر به خوبی مخلوط نموده، سپس دیسک مروپنم (MER 10µg) را به درون هر یک از میکروتیوپ های حاوی محیط براث و باکتری اضافه کرده و به مدت ۴ ساعت درون انکوباسیون انجام شد. همزمان، سوسپانسیون میکروبی (معادل نیم مک فارلند) از سویه باکتریایی استاندارد *شریشیاکلی* ATCC 25922 کشت خطی داده شد و دیسک های آغشته به باکتری را بر روی محیط کشت قرار داده شد و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوباسیون انجام شد. افزایش قطر هاله عدم رشد به اندازه ≥ ۱۸mm نشان دهنده تولید کارباپنماز است (۱۵).

استخراج DNA باکتریایی و شناسایی مولکولی ژن‌های *mcr-1*، *mcr-2* و *fosA3* با تکنیک PCR

پس از کشت ۲۴ ساعته جدایه‌های خالص *اسینتوباکتر بومانی*، DNA تمام ایزوله‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA (Bioneer Co.Korea) استخراج شدند. از تکنیک مولکولی Polymerase Chain Reaction (PCR) برای شناسایی حضور ژن‌های *mcr-1*، *mcr-2* و *fosA3* استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن های مذکور در جدول ۱ نشان داده شده است. جهت تکثیر ژن های مورد مطالعه مخلوط PCR در حجم نهایی ۲۵gµ تهیه شد (۱۶).

تحلیل داده‌ها

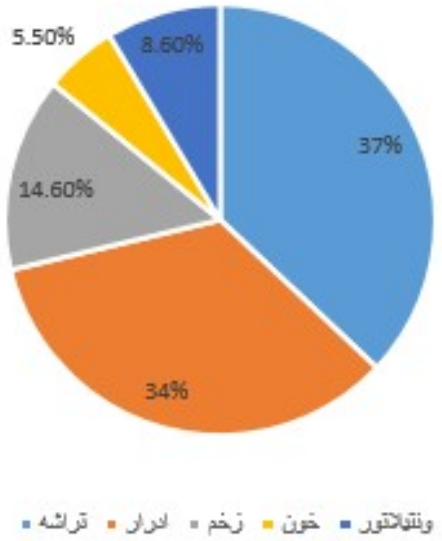
در این مطالعه تمام آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار انجام شد و از آزمون chi-square جهت مقایسه متغیرها در دو گروه، در نرم افزار SPSS ورژن ۲۷ استفاده شد و *p*- value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعداد ۲۱۹ جدایه بالینی بر اساس فرمول آماری طی سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۰جمع آوری و با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی استاندارد و وجود ژن *OXA51* به عنوان مارکر ژنتیکی *اسینتوباکتر بومانی* با کمک تکنیک PCR تائید هویت شدند. میزان فراوانی جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* جمع آوری شده در نمونه‌های مختلف بررسی شد (نمودار ۱).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-09-09]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.7.7]



نمودار ۱. درصد فراوانی جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* جمع آوری شده در نمونه‌های بالینی مختلف

بر اساس نتایج حاصل از آنتی بیوگرام، بیشترین مقاومت جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* به دست آمده، نسبت به سفتریاکسون (۱۰۰٪)، سفوتاکسیم (۱۰۰٪)، سفپیم (۱۰۰٪)، سفیکسیم (۱۰۰٪)، پیپراسلین (۱۰۰٪) و سفتازیدیم (۱۰۰٪) مشاهده شد. مقاومت به آنتی بیوتیک-های سیپروفلوکساسین، آمیکاسین و جنتامایسین به ترتیب ۸۷/۳ ٪، ۷۱/۸ ٪ و ۶۷/۶ ٪ ارزیابی شد (جدول ۲). براساس روش فنوتیپی با استفاده از دیسک ترکیبی (شکل ۱) و جدایه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌های ایمی پنم، مروپنم تعداد ۷۱ جدایه *اسینتوباکتر بومانی* تولید کننده ESBL و مقاوم به کارباپنم جداسازی شدند. تمام جدایه‌های تولید کننده ESBL و مقاوم به کارباپنم، نسبت به کولیستین، فسفومایسین و تیگسایکلین حساس بودند.

نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) کولیستین با روش E-Test نشان داد که تمام جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* تولید کننده ESBL و مقاوم به کارپنم به این آنتی بیوتیک حساس بودند. همچنین MIC50 و MIC90 برای این آنتی بیوتیک در جدایه‌های این مطالعه به ترتیب ۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر و ۱ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد (شکل ۲).

نتایج حاصل از آزمون PCR نشان دادند که از میان ۷۱ جدایه *اسینتوباکتر بومانی* تولید کننده ESBL و مقاوم به کارباپنم مورد آزمایش، هیچکدام از جدایه‌ها حاوی ژن های *mcr-1* و *mcr-2* و *fosA3* نبودند. شکل ۳، تصویر نتایج حاصل از تکثیر نمونه‌های کنترل مثبت اهدایی از طرف آقای دکتر عبدالمجید قاسمیان را نشان می‌دهد.

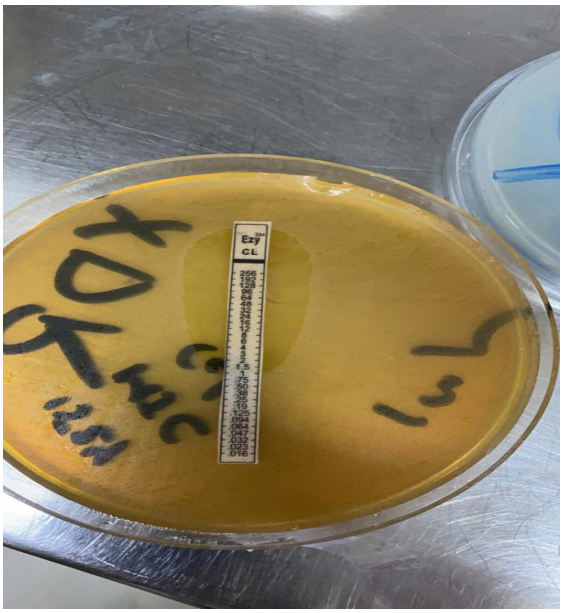
جدول ۲. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* به روش انتشار دیسک در آگار

Antibiotic	Susceptible n (%)	Intermediate n (%)	Resistant n (%)
Amikacin (30µg)	(۲۸/۲)۲۰	(۰) ۰	(۷۱/۸)۵۱
Gentamicin (10µg)	(۲۲/۴)۲۳	(۰) ۰	(۶۷/۶)۴۸
Ciprofloxacin (5µg)	(۱۲/۷)۹	(۰) ۰	(۸۷/۳)۶۲
Ceftazidime (30µg)	(۰) ۰	(۰) ۰	(۱۰۰)۷۱
Cefepime (30µg)	(۰) ۰	(۰) ۰	(۱۰۰)۷۱
Cefotaxime (30µg)	(۰) ۰	(۰) ۰	(۱۰۰)۷۱
Ceftriaxone (30µg)	(۰) ۰	(۰) ۰	(۱۰۰)۷۱
Cefixime (5 µg)	(۰) ۰	(۰) ۰	(۱۰۰)۷۱
Fosfomycin (200 µg)	(۱۰۰) ۷۱	(۰) ۰	(۰) ۰
(15 µg) Tigecycline	(۱۰۰)۷۱	(۰) ۰	(۰) ۰
Piperacillin (100µg)	(۰) ۰	(۰) ۰	(۱۰۰)۷۱
Ticarcillin (75µg)	(۰) ۰	(۰) ۰	(۱۰۰)۷۱
Tetracycline (30µg)	(۶/۹)۱۱	(۸)۱۳	(۸۵/۱)۷۱
Meropenem (10µg)	(۲/۸)۲	(۰) ۰	(۹۷/۲)۶۹
Imipenem (10µg)	(۰) ۰	(۰) ۰	(۱۰۰)۱

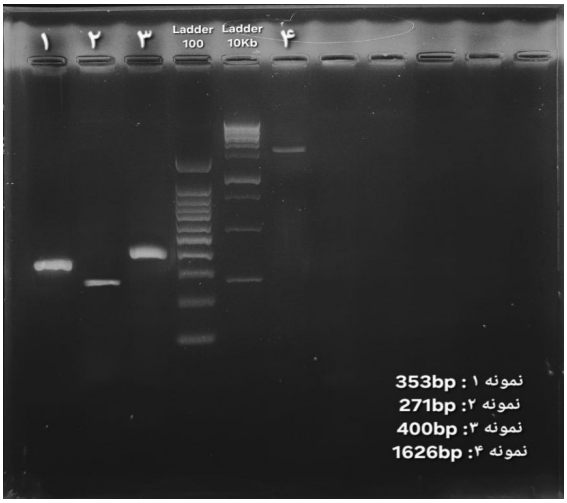
شکل ۱. شناسایی فنوتیپی جدایه های تولیدکننده ESBL روش دیسک ترکیبی

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-09-09]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.7.7]



شکل ۲. MIC رشد جهت آنتی بیوتیک کولیستین با روش E-Test



شکل ۳. نمونه‌های کنترل مثبت حاوی ژن‌های مورد نظر.
چاهک شماره یک، کنترل مثبت ژن *OXA-51*
چاهک شماره ۲، کنترل مثبت ژن *fosA3*
چاهک شماره ۳، کنترل مثبت ژن *mcr-1*
چاهک شماره ۴، کنترل مثبت ژن *mcr-2*

بحث

انتقال میکروارگانیسم‌های مقاوم به انواع آنتی بیوتیک‌ها در بیمارستان‌ها در طول ۲۰ سال اخیر بسیار قابل توجه است و به دلیل منتقل شدن ژن مقاومت در میان باکتری‌های گرم منفی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی در حال افزایش است (۱۹). مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در باکتری‌های گرم منفی خانواده انتروباکتریالس، *سودوموناس آئروژینوزا*، و *اسینتوباکتر* شایع‌تر است. در بین پاتوژن‌های یاد شده، گونه‌های *اسینتوباکتر* نقش اساسی را در عفونت و کلونیزه شدن در بیماران بستری در بیمارستان‌ها دارند (۲۰). این ارگانیسم‌ها در عفونت‌های متعدد، مثل پنومونی وابسته به اندوکاردیت، عفونت‌های پوستی، دستگاه ادراری، مننژیت، بافت نرم، و افرادی که از پروتزها استفاده می‌کنند نقش مهمی دارند (۲۱). مهم‌ترین گونه *اسینتوباکتر*، *اسینتوباکتر بومانی* است. میزان مرگ و میر نشأت گرفته از این باکتری حدود ۵ درصد در بخش‌های عمومی و ۵۴ درصد در بخش‌های مراقبت ویژه گزارش شده است (۲۲). در ایران نیز به دلیل عدم اطلاع کافی از وضعیت مقاومت میکروبی و استفاده از مراجع خارجی که ممکن است بدون تناسب با وضع مقاومت میکروبی در داخل کشور باشد نیز مقاومت دارویی در حال گسترش است (۲۳).

به دلیل اینکه روش‌های تشخیص فنوتیپیک توانایی تمایز دادن گونه‌های مختلف *اسینتوباکتر* و تشخیص دادن گونه *اسینتوباکتر بومانی* را ندارند، در این مطالعه از تکنیک PCR برای شناختن ژن $bla_{OXA\text{-}51\text{-}like}$ که مختص این گونه است، استفاده شد. تمامی سویه‌ها دارای ژن $bla_{OXA\text{-}51\text{-}like}$ بودند. پژوهش‌های مختلفی وجود این ژن را در شناخت گونه *اسینتوباکتر بومانی* تایید کرده‌اند (۲۴).

این پاتوژن به علت زیاد شدن شیوع و گسترش جهانی جدایه‌های بالینی همراه با مقاومت چند دارویی و پیدایش سریع مقاومت، به " هشدار قرمز" تبدیل شده است (۲۵). سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* دارای آنزیم‌های ESBL مقاومت آشکار (MIC>16mg/ml) به تمامی سفالوسپورین‌های وسیع الطیف و آزترونام نشان می‌دهند. ESBLها به واسطه اینکه توسط پلاسمیدهای خیلی بزرگی کد می‌شوند، اغلب ژن‌های مقاومت به سایر عوامل ضد میکروبی را نظیر آمینوگلیکوزیدها، تری متوپریم، سولفانامیدها، تتراسیکلین و کلرامفنیکل را نیز می‌توانند به همراه خود منتشر کنند (۲۶). در مطالعه حاضر، بیشترین مقدار فراوانی *اسینتوباکتر بومانی* مرتبط به نمونه‌های تراشه (۳۷ درصد) و حداقل فراوانی مرتبط به نمونه‌های خون (۵/۵ ٪) بود. بر اساس نتایج حاصل از آنتی بیوگرام، بیشترین مقاومت جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* به دست آمده نسبت به سفالوسپورین‌ها و پیپراسیلین مشاهده شد و همچنین ۱۲۴ سویه *اسینتوباکتر بومانی* (۵۶/۶٪) بر مبنای تست فنوتیپی ترکیبی دارای آنزیم ESBL بودند. در مطالعه زرآبادی پور و همکارانش در سال ۲۰۲۱ در ایران شیوع مشابهی از جدایه‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* دارای آنزیم‌های ESBL (۶۲/۶ ٪) گزارش شده است (۲۷).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-09-09]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.7.7]

در مطالعه ما، ۷۱ سویه (۵۷/۲٪) از بین جدایه‌های تولید کننده آنزیم ESBL دارای مقاومت به کاربانپم‌ها بودند که این جدایه‌ها وارد مطالعه شدند. طبق گزارش مرادی و همکارانش در سال ۲۰۱۵، بررسی مطالعات بر روی ۳۰۴۹ جدایه‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* در دوره زمانی ۲۰۰۱ تا ۲۰۱۴ در ایران بیانگر این واقعیت است که در این دوره زمانی به مرور میزان مقاومت به کاربانپم‌ها افزایش پیدا کرده است. مقاومت به کاربانپم‌ها در نقطه شروع مطالعه حدود ۶۵٪ بود و در پایان مطالعه این میزان مقاومت به میزان ۷۶/۴٪ رسید و این نشان دهنده افزایش مقاومت به کاربانپم‌ها در *اسینتوباکتر بومانی* در ایران است (۲۸). در مطالعه یزدان ستاد و همکارانش در سال ۲۰۱۹ میزان شیوع بسیار بالای مقاومت به کاربانپم‌ها در *اسینتوباکتر بومانی* جداسازی شده از زخم‌های سوختگی گزارش شده است. در این مطالعه، ۹۶/۹٪ (۶۳ جدایه از ۶۵ جدایه) *اسینتوباکتر بومانی* جداسازی شده از زخم‌های سوختگی مقاومت به کاربانپم‌ها را نشان دادند (۲۹).

خوشبختانه حساسیت بالا در مقابل لیپوپپتیدها (کولیستین) در بین جدایه‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به چندین دارو (MDR) مشاهده می‌شود. در مطالعه ما نیز پس از انجام E-Test به منظور بررسی حداقل غلظت مهاری آنتی بیوتیک کولیستین، مشخص شد که تمام جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربانپم به این آنتی بوتیک حساس بودند. اگرچه اخیراً چند مورد *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کولیستین در ایران گزارش شده‌اند. در مطالعه یزدان ستاد و همکارانش در سال ۲۰۱۹ گزارش داده شد که ۱۲/۷٪ (۸ جدایه از ۶۵ جدایه) *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کاربانپم به کولیستین نیز مقاومت نشان دادند (۲۹). در سال‌های قبل‌تر نیز بهادر و همکارانش در سال ۲۰۱۳ برای اولین بار میزان شیوع بالای ۱۴/۲ ٪ *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به آنتی بیوتیک کولیستین را گزارش کرده بودند (۳۰).

میزان مقاومت به آمینوگلیکوزیدها نیز بسیار نگران کننده بود، که برای آمیکاسین ۷۱/۸٪ و برای جنتامایسین ۶۷/۶ ٪ مشاهده شد. مقاومت کامل به تمام آنتی بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام‌ها (۱۰۰٪) در این مطالعه نیز مشاهده شد. مقاومت به سیپروفلوکساسین به عنوان داروی شاخص گروه فلوروکینولون‌ها نیز در اکثر جدایه‌ها مشاهده شد. به طور خلاصه، این داده‌ها نشان دهنده مقاومت بالا به همه آنتی بیوتیک‌ها به جز کولیستین و فسفومایسین است.

در مطالعه حاضر میزان شیوع ژن‌های *mcr-1* و *mcr-2* مطابق انتظار صفر بود. در مطالعه‌ای توسط آقاپور و همکارانش گزارش شد تمام جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو از نظر وجود ژن‌های *mcr-1* و *mcr-2* منفی بودند (۳۱). تاکنون حضور ژن‌های *mcr-1* و *mcr-2* در بین جدایه‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو گزارش نشده است. هرچند در گذشته حضور ژن‌های *mcr-1* و *mcr-2* در بین جدایه‌های *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* در ایران گزارش شده است (۳۲). بنابراین این نگرانی وجود دارد که امکان انتقال افقی این ژن‌ها از جدایه‌های *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* و یا سایر اعضای انتروباکتریالس به جدایه-های *اسینتوباکتر بومانی* سبب پیدایش و گسترش جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کولیستین به واسطه این ژن‌ها شود.

در مطالعه‌ای که محمد کریم طی سال های ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۸ بر روی ۲۰۵ جدایه *اسینتوباکتر بومانی* در کشور عراق انجام داد، ۹۵ درصد جدایه‌ها به کاربانپم ها مقاوم بودند و ۷ درصد جدایه‌ها دارای ژن *fosA3* و ۱۱ درصد نیز دارای ژن *mcr-1* بودند. هیچ کدام از جدایه‌ها دارای ژن *mcr-2* نبودند و در مقایسه با مطالعه حاضر، مقاومت بالاتری مشاهده شد و بیانگر ارتباط بین مناطق جغرافیایی مختلف و میزان شیوع این ژن-های مقاومت آنتی بیوتیکی است (۳۳).

در مطالعه دیگری در کشور عراق که توسط عبدالطیف و همکارانش که طی سال های ۲۰۱۹ الی ۲۰۲۱ بر روی ۲۰۰ جدایه بالینی *اسینتوباکتربومانی* صورت پذیرفت، میزان شیوع ژن‌های *mcr-1* و *mcr-2* و *fosA3* به ترتیب ۲٪ و ۵٪ و ۱٪ و صفر درصد گزارش شد که به نتایج مطالعه حاضر نزدیک است (۳۴).

در مطالعه حاضر همچنین شیوع ژن *fosA3* در بین جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* تولید کننده آنزیم ESBL دارای مقاومت به کاربانپم‌ها صفر بود و جدایه‌ها حساسیت خوبی را در برابر فسفومایسین نشان دادند. در ایران، بررسی میزان شیوع ژن *fosA3* تنها در بین جدایه‌های انتروباکتریالس انجام گرفته است. در مطالعه‌ای که قناوندی و همکارانش در ایران در سال ۲۰۱۷ انجام دادند، ۳۵۵ نمونه انتروباکتریالس جمع آوری کردند که این نمونه‌ها شامل ادرار، خون، زخم و منابع دیگر در طی مدت زمان حدود یک سال بودند. ژن‌هایی که جهت مقاومت به فسفومایسین مطالعه کردند، شامل ژن‌های پلاسمیدی و کروموزومی بودند که ژن‌های پلاسمیدی شامل *fosA*, *fosB*, *fosA3* و *fosC2* با روش مولکولی بررسی شدند. در این مطالعه، تعداد ۱۵۵ نمونه تولید کننده بتالاکتاماز بودند که ۹۲/۸ ٪ به فسفومایسین حساس بودند. به عنوان نتیجه در این مطالعه بیان شد که هیچ یک از انتروباکتریالس‌های تولید

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-09-09]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.7.7]

کننده بتالاکتاماز شاخص مقاومت یا موتاسیونی در برابر فسفومایسین ندارند و حساسیت خوبی را در برابر فسفومایسین نشان دادند (۳۵).

مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران بر روی جدایه‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* انجام گرفت و نتایج بیانگر عدم وجود ژن‌های شایع عامل مقاومت به آنتی بیوتیک‌های کولیستین و فسفومایسین به عنوان آنتی بیوتیک‌های مهم خطوط آخر درمان هستند.

از یافته‌های این پژوهش نتیجه‌گیری می‌شود، هیچ یک از ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک‌های فسفومایسین و کولیستین در بین جدایه‌های *اسینتوباکتر بومانی* تولید کننده ESBL و مقاوم به کاربانم مشاهده نشد. تجویز منطقی آنتی بیوتیک‌های فسفومایسین و کولیستین در بخش‌های مختلف بیمارستان به منظور کاهش مصرف بی رویه آنتی بیوتیک‌ها و هزینه‌های درمانی بسیار حائز اهمیت است. همچنین مقدار شیوع ژن‌های *mcr-1* ، *mcr-2* و *fosA3* در میان جدایه‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی در قسمت‌های مختلف بیمارستانی صفر بوده است، اگرچه در پژوهش‌های آتی می‌توان توسط نمونه گیری از نمونه‌های موجود در محیط به حضور احتمالی این ژن‌های قابل انتقال پی برد و در صورت منابع مشترک و شناسایی کردن آن‌ها از پخش و مقاومت احتمالی آن‌ها جلوگیری کرد.

قدردانی و تشکر

این تحقیق با حمایت مادی و معنوی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران انجام شده است که بدین طریق از همگی عزیزان قدردانی می‌شود. از آقای دکتر عبدالمجید قاسمیان نیز به جهت اهدای نمونه‌های کنترل مثبت حاوی ژن‌های مورد مطالعه، کمال تشکر را داریم.

REFERENCES

1. De Oliveira DM, Forde BM, Kidd TJ, Harris PN, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. Clin Microbiol Rev 2020;33:e00181-19.

2.Rosa TF, Coelho SS, Foletto VS, Bottega A, Serafin MB, Machado CdS, et al. Alternatives for the treatment of infections caused by ESKAPE pathogens. J Clin Pharmacy Ther 2020;45: 863-73.

3.Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. Acinetobacter baumannii antibiotic resistance mechanisms. Pathogens 2021;10:373.

4.Whiteway C, Breine A, Philippe C, Van der Henst C. Acinetobacter baumannii. Trends Microbiol 2022;30:199-200.

5.Ayoub Moubareck C, Hammoudi Halat D. Insights into Acinetobacter baumannii: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. Antibiotics 2020;9:119.

6.Zaidan N, Hornak JP, Reynoso D. Extensively drug-resistant Acinetobacter baumannii nosocomial pneumonia successfully treated with a novel antibiotic combination. Antimicrob Agents Chemother 2021;65: e0092421.

7.Jeon JH, Jang K-M, Lee JH, Kang L-W, Lee SH. Transmission of antibiotic resistance genes through mobile genetic elements in Acinetobacter baumannii and gene-transfer prevention. Sci Total Environ 2023;857:159497.

8.Nguyen M, Joshi S. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. J Appl Microbiol 2021;131:2715-38.

9.Takebayashi Y, Findlay J, Heesom KJ, Warburton PJ, Avison MB, Evans BA. Variability in carbapenemase activity of intrinsic OxaAb (OXA-51-like) β-lactamase enzymes in Acinetobacter baumannii. J Antimicrob Chemother 2021;76:587-95.

10.Falcone M, Tiseo G, Leonildi A, Della Sala L, Vecchione A, Barnini S, et al. Cefiderocol-compared to colistin-based regimens for the treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii. J Antimicrob Chemother 2022;66:e02142-21.

11.Levi I, Rubinstein E. Acinetobacter infections—overview of clinical features. Acinetobacter 2020:101-15.

12.Rai S, Dash D, Agarwal N. Introducing the new face of CLSI M100 in 2023: An explanatory review. Indian J Med Microbiol 2023;46:100432.

13.Kolesnik-Goldmann N, Seth-Smith HM, Haldimann K, Imkamp F, Roloff T, Zbinden R, et al. Comparison of Disk Diffusion, E-Test, and Broth Microdilution Methods for Testing In Vitro Activity of Cefiderocol in Acinetobacter baumannii. Antibiotics 2023;12:1212.

14.Kumari M, Bhattarai NR, Rai K, Pandit TK, Khanal B. Multidrug-Resistant Acinetobacter: Detection of ESBL, MBL, blaNDM-1 Genotype, and Biofilm Formation at a Tertiary Care Hospital in Eastern Nepal. Int J Microbiol 2022;2022:8168000.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-09-09]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.7.7]

15.Patidar N, Vyas N, Sharma S, Sharma B. Phenotypic detection of carbapenemase production in carbapenem-resistant enterobacteriaceae by modified hodge test and modified strip Carba NP test. J Lab Physicians 2021;13:14-21.

16.El-Kazzaz W, Metwally L, Yahia R, Al-Harbi N, El-Taher A, Hetta HF. Antibiogram, prevalence of OXA carbapenemase encoding genes, and RAPD-genotyping of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii incriminated in hidden community-acquired infections. Antibiotics 2020;9:603.

17.Najafikhah A, Hakemi-Vala M, Samavat S, Nasiri MJ. Molecular Analysis of Fosfomycin Resistance Among Escherichia coli Isolates From Urinary Tract Infections in Kidney Transplant Patients During 2019-2020. Arch Clin Infect Dis 2023;18:e132120.

18.Ilbeigi K, Askari Badouei M, Vaezi H, Zaheri H, Aghasharif S, Kafshdouzan K. Molecular survey of mcr1 and mcr2 plasmid mediated colistin resistance genes in Escherichia coli isolates of animal origin in Iran. BMC Res Notes 2021;14:1-5.

19.Willems RP, van Dijk K, Vehreschild MJ, Biehl LM, Ket JC, Remmelzwaal S, Vandenbroucke-Grauls CM. Incidence of infection with multidrug-resistant Gram-negative bacteria and vancomycin-resistant enterococci in carriers: a systematic review and meta-regression analysis. Lancet Infect Dis 2023;23:719-31.

20.Hansen GT. Continuous evolution: perspective on the epidemiology of carbapenemase resistance among Enterobacterales and other Gram-negative bacteria. Infect Dis Ther 2021;10:75-92.

21.Gedefie A, Demsis W, Ashagrie M, Kassa Y, Tesfaye M, Tilahun M, et al. Acinetobacter baumannii biofilm formation and its role in disease pathogenesis: a review. Infect Drug Resist 2021:3711-9.

22.Appaneal HJ, Lopes VV, LaPlante KL, Caffrey AR. Treatment, clinical outcomes, and predictors of mortality among a national cohort of admitted patients with Acinetobacter baumannii infection. Antimicrob Agents Chemother 2022;66(3):e01975-21.

23.Farajzadeh Sheikh A, Savari M, Abbasi Montazeri E, Khoshnood S. Genotyping and molecular characterization of clinical Acinetobacter baumannii isolates from a single hospital in Southwestern Iran. Pathog Glob Health 2020;114:251-61.

24.Noshadi S, Khodavandi A. Expression analysis of drug-resistant gene (blaOXA-51) in carbapenemases producing Acinetobacter baumannii treated with imipenem/sulbactam combination. Braz J Pharm Sci 2021;57:e19048.

25.Girija AS. Acinetobacter baumannii as an oro-dental pathogen: a red alert!! J Appl Oral Sci 2024;32:e20230382.

26.Abd El-Baky RM, Farhan SM, Ibrahim RA, Mahran KM, Hetta HF. Antimicrobial resistance pattern and molecular epidemiology of ESBL and MBL producing Acinetobacter baumannii isolated from hospitals in Minia, Egypt. Alexandria J Med 2020;56:4-13.

27.Zarabadi-Pour M, Peymani A, Habibollah-Pourzereshki N, Sarookhani MR, Karami AA, Javadi A. Detection of Extended-Spectrum ß-Lactamases among Acinetobacter Baumannii Isolated from Hospitals of Qazvin, Iran. Ethiop J Health Sci 2021;31:229-36.

28.Moradi J, Hashemi FB, Bahador A. Antibiotic resistance of Acinetobacter baumannii in Iran: a systemic review of the published literature. Osong Public Health Res Perspect 2015;6:79-86.

29.Yazdansetad S, Najari E, Ghaemi EA, Javid N, Hashemi A, Ardebili A. Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii isolates carrying blaOXA genes with upstream ISAba1: First report of a novel OXA subclass from Iran. J Glob Antimicrob Resist 2019;18:95-99.

30.Emergence of Rifampicin, Tigecycline, and Colistin-Resistant Acinetobacter baumannii in Iran; Spreading of MDR Strains of Novel International Clone Variants. Microb Drug Resist 2013;19:397-406.

31.Aghapour Z, Hasani A, Aghazadeh M, Rezaee MA, Ganbarov K, Pourlak T, et al. Genes involved in colistin resistance of gram-negative isolates in the northwest of Iran. Gene Reports 2019;14:81-6.

32.Moosavian M, Emam N. The first report of emerging mobilized colistin-resistance (mcr) genes and ERIC-PCR typing in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae clinical isolates in southwest Iran. Infect Drug Resist 2019;12:1001.

33.Kareem SM. Emergence of mcr-and fosA3-mediated colistin and fosfomycin resistance among carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii in Iraq. Meta Gene 2020;25:100708.

34.Abdulateef SA, Al-Salmani MS, Owaif HAA. Acinetobacter baumannii producing ESBLs and carbapenemases in the Intensive Care Units developing fosfomycin and colistin resistance. Journal of Applied and Natural Science 2023;15:1263-67.

35.Ghanavati R, Ohadi E, Kazemian H, Yazdani F, Torki A, Kalani BS, et al. Evaluation of Fosfomycin Activity Against Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Producing Enterobacteriaceae Isolated from Three Centers of Tehran, Iran. Recent Pat Antiinfect Drug Discov 2018;13:180-86.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-09-09]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.7.7]