Antibiotic Resistance Pattern and Genetic Relatedness of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Respiratory Tract Infections in Western Iran

Mobina Niknian[1], Kambiz Feyzi[2], Bita Bakhshi3, Safoura Derakhshan[4]

1. MSc, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3978-7352
2. MSc, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0009-0001-9932-0041
3. PhD, Department of Bacteriology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. ORCID: 0000-0002-7523-7905
4. PhD, Zoonoses Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran., (Corresponding Author), Tel: 08733664654, Email: s.derakhshan@muk.ac.ir. sderakhshan76@gmail.com. ORCID: 0000-0003-3978-014X

ABSTRACT

Background and Aim: The spread of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) that causes respiratory tract infections (RTIs) poses a therapeutic challenge worldwide. This study aimed to investigate antibiotic resistance in *A. baumannii* strains isolated from patients with RTIs in western Iran and to determine their genetic relationships.

Materials and Methods: Over four months (November 2020 to February 2021), 59 *A. baumannii* isolates were collected from respiratory samples of patients hospitalized with RTI at two main hospitals in Kermanshah and Sanandaj, western Iran. Isolates were characterized for antimicrobial susceptibility by the disk diffusion method and the presence of major carbapenemase genes (metallo-beta-lactamases and OXA-type carbapenemases) by polymerase chain reaction. Molecular typing of the isolates was performed using Enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) followed by multilocus sequence typing (MLST) (Pasteur scheme).

Results: Carbapenem resistance was high (91.5%) among isolates. The most common carbapenemase was the bla_{VIM} gene (89.8%), followed by the $bla_{\text{OXA-24-like}}$ gene (78%). Almost half of the isolates (49.2%) harbored the $bla_{\text{OXA-23-like}}$, and 10.2% of isolates harbored the $bla_{\text{OXA-58-like}}$. In 37.3% of isolates, the IS*Aba1* was found upstream of the $bla_{\text{OXA-51-like}}$ gene. The coexistence of OXA types and metallo-beta-lactamase genes was observed in 89.8% of isolates. Most of the isolates from Sanandaj were grouped into a single main genotype: Clone D, which included both carbapenem-sensitive and -resistant isolates. The largest clone identified in Kermanshah (Clone E) contained the carbapenem-resistant isolates. MLST identified that some isolates from Clones D and E belong to new sequence types (STs) 2237 and 380, respectively.

Conclusion: In this study, a high level of carbapenem resistance and genetic relatedness were found in *A. baumannii* isolated from RTI. At present, ST380 and ST2237 are not widely spreading clones, but they might be emerging clones carrying resistance determinants; therefore, awareness of measures to prevent the spread of these STs in hospitals may be necessary.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Bacterial Typing, Carbapenem, Metallo-beta-lactamase, Respiratory Tract Infections

Received: Sep 24, 2025 **Accepted:** Feb 25, 2026

How to cite the article: Mobina Niknian, Kambiz Feyzi, Bita Bakhshi, Safoura Derakhshan. Antibiotic Resistance Pattern and Genetic Relatedness of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Respiratory Tract Infections in Western Iran. SJKU 2026;30(6):30-45.

Copyright © 2026 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و ارتباط ژنتیکی *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از عفونتهای دستگاه تنفسی در غرب ایران

مبینا نیک‌نیان[۱]، کامبیز فیضی[۲]، بی تا بخشی[۳]، صفورا درخشان[۴]

۱. کارشناس ارشد، کمیتهٔ تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۳۹۷۸-۷۳۵۲

۲. کارشناس ارشد، کمیتهٔ تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید:۰۰۰۹-۰۰۰۱-۹۹۳۲-۰۰۴۱

۳. دکترای تخصصی، گروه باکتری شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. کد ارکید:۰۰۰۰-۰۰۰۲-۷۵۲۳-۷۹۰۵

۴. دکترای تخصصی، مرکز تحقیقات ژنونوز، پژوهشکده توسعه بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. پست الکترونیک: s.derakhshan@muk.ac.ir , sderakhshan76@gmail.com ، شماره تماس: ۰۸۷۳۳۶۶۴۶۵۴، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۳۹۷۸-۰۱۴X

چکیده

زمینه و هدف: : گسترش *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به داروی عامل عفونت‌های دستگاه تنفسی، نوعی چالش درمانی در سراسر جهان است. اهداف این مطالعه بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از بیماران مبتلا به عفونت‌های دستگاه تنفسی در غرب ایران و تعیین ارتباط ژنتیکی آن‌ها بود.

مواد و روش‌ها: طی چهار ماه (آذر تا اسفند ۱۳۹۹)، ۵۹ ایزولهٔ *اسینتوباکتر بومانی* از نمونه‌های تنفسی بیماران مبتلابه عفونت دستگاه تنفسی بستری در دو بیمارستان اصلی در شهرهای کرمانشاه و سنندج، غرب ایران، جمع‌آوری شد. ایزوله‌ها از نظر حساسیت ضدمیکروبی با روش انتشار از دیسک و حضور ژن‌های اصلی کارباپنماز (متالوبتالاکتامازها و کارباپنمازهای نوع OXA) با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بررسی شدند. تیپ‌بندی مولکولی ایزوله‌ها با روش اجماع بین‌ژنی تکراری انتروباکتریایی (Enterobacterial repetitive intergenic consensus, ERIC) و به‌دنبال آن، تیپ‌بندی توالی چند لوکوسی (Multilocus sequence typing, MLST) (طرح پاستور) انجام شد.

یافته‌ها: مقاومت به کارباپنم در ایزوله‌ها زیاد بود (۹۱/۵ درصد). رایج‌ترین کارباپنماز، ژن bla_{VIM} (۸۹/۸ درصد) و پس از آن، ژن $bla_{OXA-24-like}$ (۷۸ درصد) بود. تقریباً نیمی از ایزوله‌ها (۴۹/۲ درصد) دارای $bla_{OXA-23-like}$ و ۱۰/۲ درصد ایزوله‌ها دارای $bla_{OXA-58-like}$ بودند. در ۳۷/۳ درصد ایزوله‌ها، IS*Aba1* در بالادست $bla_{OXA-51-like}$ یافت شد. وجود هم‌زمان ژن‌های نوع OXA و متالوبتالاکتاماز در ۸۹/۸ درصد ایزوله‌ها مشاهده شد. اکثر ایزوله‌های سنندج در یک ژنوتیپ اصلی گروه‌بندی شدند: کلون D که حاوی ایزوله‌های حساس و مقاوم به کارباپنم بود. بزرگ‌ترین کلون شناسایی‌شده در کرمانشاه (کلون E) حاوی ایزوله‌های مقاوم به کارباپنم بود. MLST مشخص کرد که برخی از ایزوله‌های کلون D و کلون E به‌ترتیب به تیپ توالی (Sequence type, ST) جدید ۲۲۳۷ و ۳۸۰ تعلق دارند.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، سطح بالایی از مقاومت به کارباپنم و ارتباط ژنتیکی در *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از عفونت‌های دستگاه تنفسی یافت شد. درحال‌حاضر، ST380 و ST2237 کلون‌های شایعی نیستند، اما ممکن است کلون‌های نوظهور حامل عوامل مقاومت باشند. بنابراین، آگاهی دربارهٔ پیشگیری از گسترش این STها در بیمارستان‌ها، ممکن است ضروری باشد.

کلمات کلیدی: *اسینتوباکتر بومانی*، تیپ‌بندی باکتریایی، کارباپنم، متالوبتالاکتاماز، عفونت‌های دستگاه تنفسی

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۰۳ اصلاحیه نهایی:۱۴۰۴/۱۱/۱۴ پذیرش:۱۴۰۴/۱۲/۰۶

مقدمه

در سال‌های اخیر، کوکوباسیل گرم منفی *اسینتوباکتر بومانی* به تهدید جهانی در مراکز درمانی به‌ویژه بخش مراقبت ویژه (Intensive care unit, ICU) تبدیل شده است (۱). عفونت‌های ناشی از این باکتری اغلب به‌صورت عفونت دستگاه تنفسی و پس از آن، عفونت خون، پوست و بافت نرم بروز می‌کنند. در سراسر جهان، عفونت‌های تنفسی ناشی از *اسینتوباکتر بومانی* یکی از علل اصلی بستری‌شدن در بیمارستان‌ها هستند (۲).

اسینتوباکتر بومانی به بیشتر داروهای ضدمیکروبی مقاوم شده است. با توجه به این وضعیت نگران‌کننده، سازمان بهداشت جهانی (World health organization, WHO) این باکتری را به‌عنوان نوعی عامل بیماری‌زای تهدیدکنندهٔ زندگی طبقه‌بندی کرده است و محققان و پزشکان توجه زیادی به مکانیسم‌های تسهیل‌کنندهٔ بقای آن داشته‌اند (۳). شواهد درحال افزایشی نشان می‌دهند که *اسینتوباکتر بومانی* طیف گسترده‌ای از مکانیسم‌های مقاومت به تمام کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی موجود و همچنین توانایی شگفت‌انگیزی برای کسب عوامل جدید مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، از جمله کارباپنم‌ها، را دارد. در بیشتر موارد، آنتی‌بیوتیک‌های گروه کارباپنم آخرین انتخاب برای درمان عفونت‌های جدی ناشی از *اسینتوباکتر بومانی* هستند، اما مقاومت درحال افزایش به کارباپنم درمان را بسیار دشوار کرده است؛ زیرا گزینه‌های محدودی برای درمان بیماران عفونی وجود دارد (۲).

بیشتر عفونت‌های بیمارستانی *اسینتوباکتر بومانی* در سال‌های اخیر با سویه‌های مقاوم به کارباپنم ایجاد شده است. برای مثال، مطالعه‌ای در چین میزان مقاومت دارویی بالا به کارباپنم‌ها را در *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از پنومونی مرتبط با ونتیلاتور طی هفت سال نشان داد (۴). مقاومت به کارباپنم‌ها برای تعریف یک ایزولهٔ *اسینتوباکتر بومانی* به‌عنوان بسیار مقاوم کافی است و ایزوله‌های مقاوم به کارباپنم معمولاً در برابر همهٔ کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی مقاوم هستند (۵). در بین مکانیسم‌های متنوعی که مسئول مقاومت به کارباپنم هستند، کارباپنمازها عوامل اصلی هستند و نگرانی دربارهٔ انتقال آن‌ها بین سویه‌ها روبه‌افزایش است. مهم‌ترین کارباپنمازها در *اسینتوباکتر بومانی*، کارباپنمازهای کلاس B (متالوبتالاکتاماز) هستند که از بین آن‌ها سه نوع متالوبتالاکتاماز دهلی نو (New Delhi Metallo-Beta-Lactamase, NDM)، ایمی‌پنماز (Imipenemase, IMP) و متالوبتالاکتاماز اینتگرون ورونا (Verona Integron Metallo-Beta-Lactamase, VIM) در *اسینتوباکتر بومانی* شایع‌ترند. همچنین، کارباپنمازهای کلاس D (OXA) که چهار خانوادهٔ اصلی از آن‌ها در *اسینتوباکتر بومانی* رایج‌ترند، شامل OXA-23-like، OXA-24-like، OXA-51-like و OXA-58-like (۶, ۷) می‌شوند. ژن $bla_{\text{OXA-51-like}}$ روی کروموزوم *اسینتوباکتر بومانی* قرار دارد و بسته به اینکه بیان آن توسط توالی‌های الحاقی (Insertion sequence, IS) بالادست فعال شود یا خیر، بیان بسیار متغیری دارد. توالی الحاقی IS*Aba1* در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* پراکندگی زیادی دارد و اگر در بالادست $bla_{\text{OXA-51-like}}$ قرار گیرد، پروموتر قوی برای بیان این ژن را فراهم می‌کند (۶).

سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به دارو ممکن است سریعاً بین بیماران منتقل و باعث شیوع عفونت‌های بیمارستانی شوند. گسترش این سویه‌های مقاوم در سال‌های اخیر روبه‌افزایش بوده است. بنابراین، تعیین خویشاوندی بین سویه‌ها می‌تواند در هدایت اقدامات کنترل عفونت بسیار مهم باشد. در کنترل عفونت، روش‌های تیپ‌بندی مولکولی ابزار مهمی برای شناسایی منبع اصلی عفونت هستند. تیپ‌بندی مولکولی در درک عفونت‌های اسینتوباکتر در محیط‌های بیمارستانی کمک می‌کند و با آن می‌توان شیوع، خویشاوندی و پراکندگی جغرافیایی سویه‌ها را بررسی کرد (۸). در بین روش‌های تیپ‌بندی مولکولی، بررسی توالی‌های اجماع بین‌ژنی تکراری انتروباکتریایی (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus, ERIC)

روشی مبتنی‌بر PCR است که در آن، تجزیه‌وتحلیل الگوهای به‌دست‌آمده از تکثیر توالی‌های پالیندرومی ۱۲۴-۱۲۷ جفت بازی موجود در ژنوم باکتری‌ها برای تعیین ارتباط ژنتیکی و تیپ‌بندی ایزوله‌ها استفاده می‌شود. این روشْ سریع و تفسیر آن نسبتاً آسان است. همچنین، بین ایزوله‌ها تمایز کافی فراهم می‌کند، نتایج قابل تکرار داده و امکان مقایسه نتایج را فراهم آورد (۹). تیپ‌بندی توالی چندلوکوسی (Multilocus Sequence Typing, MLST) نیز در بررسی ارتباط ژنتیکی ایزوله‌های اسینتوباکتر، به‌ویژه در محیط‌های بیمارستانی، استفاده شده است. MLST تغییرات آللی را در توالی چندین ژن مورد نیاز سلول (ژن های خانه‌دار) تجزیه‌وتحلیل می‌کند. پروتئین‌های کدشده توسط ژن‌های خانه‌دار عملکردهای ضروری در سلول دارند. بنابراین، تغییرات ایجادشده در توالی این ژن‌ها خنثی یا تقریباً خنثی هستند (۱۰). هر دو روش ERIC-PCR و MLST شناسایی خویشاوندی یا تنوع ژنتیکی ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* را ممکن می‌کنند (۹).

عفونت‌های تنفسی ناشی از *اسینتوباکتر بومانی*، خطرناک و میزان مرگ‌ومیر آن‌ها زیاد است. جداسازی، شناسایی و گزارش به‌موقع این سویه‌ها در پایش اپیدمیولوژی و هدایت مدیریت تجربی عفونت‌های تنفسی مفید خواهد بود. بنابراین، هدف از این مطالعه، بررسی میزان مقاومت به کارباپنم ناشی از ژن‌های کارباپنماز و تحلیل ارتباط ژنتیکی ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از بیماران مبتلابه عفونت‌های تنفسی در دو شهر در غرب ایران بود.

مواد و روش‌ها

جدا سازی و شناسایی ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی*

در طول چهار ماه (آذر تا اسفند ۱۳۹۹)، تمام ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* به‌دست‌آمده از نمونه‌های عفونت تنفسی بیماران بستری در بیمارستان A در شهر کرمانشاه و بیمارستان B در سنندج در غرب ایران وارد مطالعه شدند. بیمارستان A بزرگ‌ترین مجموعهٔ بیمارستانی دانشگاهی در غرب ایران است که بیش از ۷۵۰ تخت فعال با ۱۰۰ تخت مراقبت ویژه و ۲۰ اتاق عمل دارد. بیمارستان B بزرگ‌ترین مرکز عفونی در شهر سنندج است و بیش از ۴۰۰ تخت فعال دارد. ایزوله‌ها از آزمایشگاه بیمارستان‌ها دریافت و مجدداً هویت ایزوله‌ها در این مطالعه تأیید شد.

ایزوله‌ها از نمونه‌های تنفسی، شامل ترشحات ریه، خلط و ترشحات نایی (کشت مثبت نمونه‌های راه هوایی $\geq 10^5$ واحد تشکیل‌دهندهٔ کلنی در هر میلی‌لیتر (۱۱)) جدا شدند و با استفاده از تست‌های استاندارد، مانند شکل کلنی، رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز و تست‌های بیوشیمیایی از قبیل مصرف سیترات، واکنش اندول، عدم حرکت و واکنش اکسیداسیون/تخمیر شناسایی شدند (۱۲). سپس ژن بتالاکتاماز $bla_{\text{OXA-51-like}}$ و ژن *gyrB* براساس مطالعات قبلی (۱۳, ۱۴) برای شناسایی نهایی *اسینتوباکتر بومانی* تکثیر شدند. ایزوله‌ها پس از تأیید، در دمای ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد در محیط برین ـ هارت اینفیوژن براث (Merck، آلمان) حاوی ۲۰ درصد گلیسرول تا زمان آزمایش‌های بیشتر نگهداری شدند.

تعیین حساسیت به مواد ضدمیکروبی

برای تعیین حساسیت ضد میکروبی، روش انتشار از دیسک در محیط آگار براساس دستورالعمل های ۲۰۲۰ مؤسسهٔ استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) (۱۵) انجام شد. برای انجام این آزمایش، پس از تلقیح کدورت نیم مک فارلند سوسپانسیون ایزوله‌ها به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck، آلمان)، دیسک‌های ضدمیکروبی (Mast، انگلستان) در فواصل مناسب روی محیط جای‌گذاری و پس از ۲۰ تا ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد، هاله‌های عدم رشد اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و تفسیر شدند. آنتی‌بیوتیک‌ها شامل تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)،

تری‌متوپریم/ سولفامتوکسازول یا کوتریماکسازول، سفالوسپورین‌های سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و سفپیم (۳۰ میکروگرم)، کارباپنم مروپنم (۱۰ میکروگرم)، فلوروکینولون سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم) و آمینوگلیکوزید جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) بودند. برای تأیید مقاومت به مروپنم، حداقل غلظت مهاری (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) با استفاده از روش میکروبراث دایلوشن و تهیهٔ رقت‌های سریالی دو برابری از مروپنم مطابق با معیارهای CLSI2020 تعیین شد (MIC≥۲ میکروگرم در میلی‌لیتر: حساس، MIC=۴ میکروگرم در میلی‌لیتر: حدواسط، و MIC≤۸ میکروگرم در میلی‌لیتر: مقاوم). سویه‌های *اشریشیا کلی* ATCC 25922 و *سودوموناس آئروژینوزا* ATCC 27853 به‌عنوان کنترل استفاده شدند.

شناسایی ژن‌های کدکنندهٔ کارباپنماز

الگوی DNA در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction, PCR) به روش جوشاندن از ایزوله‌ها استخراج شد. به‌طور خلاصه، سوسپانسیون ایزوله‌ها در آب دیونیزه استریل به‌مدت ده دقیقه در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد جوشانده شده و بلافاصله به‌مدت پنج دقیقه روی یخ قرار گرفتند. پس از سانتریفیوژ، مواد رویی حاوی DNA جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. کیفیت DNA استخراج‌شده با الکتروفورز در ژل آگارز بررسی شد (۱۶). همچنین، برای بررسی کمی DNA از دستگاه نانودراپ (BioTek, Synergy HTX, USA) استفاده شد. در این روش، برای اندازه‌گیری مقدار DNA، جذب نوری در ۲۶۰ نانومتر (A260) تعیین و خلوص DNA با خواندن نسبت A260/A280 بررسی شد. حالت بهینهٔ A260/A280 حدود ۱/۸ تا ۲ است. مقادیر کمتر از ۱/۸ نشانهٔ آلودگی پروتئینی و نسبت بیشتر از ۲ هم نشانهٔ وجود RNA زیاد در نمونه است.

پرایمرهای مورد استفاده (شرکت سیناکلون، ایران) برای تشخیص ژن‌های کارباپنماز در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. برای انجام PCR، مخلوط واکنش با حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی DNA الگو، پرایمرهای رفت‌وبرگشت و مسترمیکس PCR (شرکت سیناکلون؛ دارای ۲۰۰ میکرومولار از هر دئوکسی نوکلئوزید تری فسفات (dNTPs)، ۱/۵ میلی‌مولار MgCl2 و ۰/۱U/µl آنزیم *Taq*DNA پلی مراز در بافر واکنش) آماده شد. تمام واکنش‌های تکثیر در یک دستگاه چرخانندهٔ حرارتی ساخت شرکت Analytic Jena (آلمان) انجام شد. کنترل منفی (آب استریل) و سویه‌های کنترل مثبت ژن‌های مورد بررسی (از مجموعهٔ میکروبی دانشگاه علوم پزشکی کردستان) در واکنش‌های PCR شامل شدند. سویه‌های قبلاً شناسایی‌شده، که برای ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه مثبت و با توالی‌یابی تأیید شده بودند، به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شدند.

تکثیر ژن‌های متالوبتالاکتاماز bla_{VIM}، bla_{IMP} و bla_{NDM} طبق این برنامه انجام شد: ۵ دقیقه واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد؛ سپس ۳۰ چرخه واسرشت در ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، اتصال در دماهای مختلف (جدول ۱) به‌مدت ۴۵ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و یک مرحله گسترش نهایی به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد.

همچنین، تکثیر سه خانوادهٔ اصلی ژن‌های نوع OXA ($bla_{OXA-23-like}$، $bla_{OXA-24-like}$ و $bla_{OXA-58-like}$) در شرایط ذیل انجام شد: واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۰ چرخه واسرشت در ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، اتصال در دماهای مختلف (جدول ۱) به‌مدت ۴۵ ثانیه، گسترش در ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و یک مرحله گسترش نهایی در ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۷ دقیقه. شناسایی دو ژن $bla_{OXA-23-like}$ و $bla_{OXA-24-like}$ به‌صورت هم‌زمان و مالتیپلکس انجام گرفت. برای شناسایی وجود IS*Aba1* در

بالادست ژن $bla_{\text{OXA-51-like}}$، پرایمر رفت IS*Aba1* (F) و پرایمر برگشت OXA-51-like (R) (جدول ۱) استفاده شد. برنامهٔ دمایی ـ زمانی تکثیر مانند شرایط ذکرشده برای تکثیر آنزیم‌های نوع OXA بود، ولی دمای اتصال ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد تعیین شد.

برای جداسازی قطعات تکثیرشده، الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در بافر Tris-Borate ۰/۵ X Ethylene Diamine Tetraacetic acid (TBE) انجام شد. لدر DNA ۱۰۰ جفت باز پلاس (پارس توس، ایران) به‌عنوان نشانگر اندازه و رنگ Safe Stain (سیناکلون) برای رنگ‌آمیزی ژل و آشکارسازی DNA در زیر نور ماورای بنفش (Ultraviolet, UV) استفاده شدند.

جدول ۱. توالی و دمای اتصال پرایمرها و اندازهٔ مورد انتظار محصولات PCR

ژن	توالی پرایمر (5′-3′)	دمای اتصال یا آنلینگ (°C)	اندازهٔ محصول (bp)	منبع
	متالوبتالاکتامازها			
bla_{NDM}	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC/ CGGAATGGCTCATCACGATC	۶۰	۶۲۱	(۱۷)
bla_{VIM}	GATGGTGTTTGGTCGCATA/ CGAATGCGCAGCACCAG	۵۹	۳۹۰	
bla_{IMP}	GGAATAGAGTGGCTTAAY(T/C)TCTC / GGTTTAAY(T/C)AAAACAACCACC	۵۳	۲۳۲	
	کرباپنمازهای نوع OXA			
$bla_{\text{OXA-23-like}}$	GATCGGATTGGAGAACCAGA/ ATTTCTGACCGCATTTCCAT	۵۹	۵۰۱	(۱۸)
$bla_{\text{OXA-24-like}}$	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA/ AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	۵۹	۲۴۶	
$bla_{\text{OXA-58-like}}$	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG/ CCCCTCTGCGCTCTACATAC	۶۰	۵۹۹	
IS*Aba1*- $bla_{\text{OXA-51-like}}$	CACGAATGCAGAAGTTG/ TGGATTGCACTTCATCTTGG	۵۵	متغیر	(۱۹)

تعیین ارتباط ژنتیکی ایزوله‌ها

انگشت‌نگاری DNA

روش ERIC-PCR برای انگشت‌نگاری DNA با استفاده از پرایمرهای ERIC1: ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC و ERIC2: AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG (۲۰) انجام شد. مخلوط واکنش با حجم ۲۰ میکرولیتر حاوی پرایمرهای رفت‌وبرگشت، DNA الگو و مسترمیکس PCR (شرکت سیناکلون؛ ۲۰۰ میکرومولار از هر دئوکسی نوکلئوزید تری فسفات (dNTPs)، ۱/۵ میلی‌مولار MgCl2 و *Taq* ۰/۱U/µl پلیمراز در بافر واکنش) تهیه شد. برنامهٔ تکثیر عبارت بود از: واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت هفت دقیقه، سپس ۳۰ چرخهٔ واسرشت در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، اتصال در ۵۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و طویل‌سازی در دمای ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۸ دقیقه و سپس یک مرحلهٔ نهایی طویل‌سازی در دمای ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۸ دقیقه. سویهٔ *اشریشیاکلی* ATCC 25922 به‌عنوان کنترل استفاده شد. پس از PCR، قطعات در ژل آگارز ۱/۵ درصد با استفاده از بافر الکتروفورز XTBE ۰/۵ جدا شدند؛ ژل‌ها با Safe Stain (سیناکلون) رنگ‌آمیزی و زیر نور UV عکس‌برداری شدند. از لدر

۱۰۰DNA جفت باز پلاس (سیناکلون، ایران) به‌عنوان نشانگر اندازه استفاده شد.

تیپ‌بندی توالی چندلوکوسی (MLST)

برای بررسی بیشتر روابط ژنتیکی ایزوله‌ها، روش MLST (طرح پاستور) براساس تفاوت در توالی ژن‌های خانه‌دار استفاده شد (۱۰). بدین منظور، هفت ژن خانه‌دار *cpn60*، *fusA*، *gltA*، *pyrG*، *recA*، *rplB* و *rpoB* با استفاده از توالی پرایمرهای ذکرشده در پایگاه دادهٔ MLST *اسینتوباکتر بومانی* (لینک) تکثیر شدند.

برنامهٔ PCR شامل یک مرحله واسرشت اولیه به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد، سپس ۳۰ چرخه واسرشت به‌مدت ۱ دقیقه در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد، اتصال به‌مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد، طویل‌سازی به‌مدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد و یک مرحله طویل‌سازی نهایی به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد بود. محصولات PCR با دستگاه ABI 3730XL (Macrogen، کره) توالی‌یابی و با استفاده از برنامهٔ BLAST در وب‌سایت NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) با توالی‌های دیگر مقایسه شدند.

تحلیل داده‌ها

تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از نسخهٔ ۲۱ نرم‌افزار SPSS (آمریکا) انجام شد. ایزوله‌هایی که به حداقل یک عامل در حداقل سه دستهٔ ضد میکروبی غیرحساس بودند، به‌عنوان مقاوم به چند دارو (Multidrug Resistant, MDR) در نظر گرفته شدند (۲۱).

در MLST، تغییرات توالی DNA با استفاده از پایگاه دادهٔ MLST اسینتوباکتر (http://pubmlst.org/abaumannii/) تحلیل شدند. پس از توالی‌یابی قطعات به‌دست‌آمده از تکثیر هفت ژن، به هر توالی متفاوت برای یک ژن مشخص، یک شماره نسبت داده شد. بنابراین، به هر سویه یک پروفایل آللی هفت‌عددی اختصاص می‌یابد که به‌عنوان تیپ توالی (Sequence type, ST) نامیده می‌شود.

در ERIC، الگوهای به‌دست‌آمده با نرم‌افزار GelJ نسخهٔ ۲ (۲۲) پردازش و نوعی دندروگرام شباهت ژنتیکی براساس الگوریتم UPGMA (Unweighted pair group with arithmetic means) و ضریب شباهت Dice مبتنی‌بر باند ایجاد شد. در ERIC، برای ایزوله‌هایی که در یک باند متفاوت بودند تیپ‌های مختلف در نظر گرفته شد و ایزوله‌های دارای الگوهای باندی غیرقابل تشخیص، در یک کلون قرار گرفتند (۲۳, ۲۴).

یافته‌ها

در طول چهار ماه زمان مطالعه، ۵۹ ایزولهٔ *اسینتوباکتر بومانی* از نمونه‌های عفونت تنفسی بیماران بستری در بیمارستان A در کرمانشاه (۴۵ ایزوله) و بیمارستان B در سنندج (۱۴ ایزوله) جمع‌آوری شدند. بیشتر ایزوله‌ها (۵۱ از ۵۹ ایزوله: ۸۶/۴ درصد) از ICU جدا شدند و ۸ ایزوله (۱۳/۶ درصد) از بخش‌های دیگر جمع‌آوری شدند (چهار ایزوله از بخش بستری عمومی، دو ایزوله از بخش جراحی و دو ایزوله از بخش نورولوژی).

تعداد بیماران مرد و زن تقریباً یکسان بود: ۳۱ بیمار (۵۲/۵ درصد) مرد و بنابراین، ۲۸ بیمار (۴۷/۵ درصد) زن بودند و از آن‌ها ۲۶ ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* (۴۴/۱ درصد) از ترشحات نایی، ۱۹ ایزوله (۳۲/۲ درصد) از خلط و ۱۴ ایزوله (۲۳/۷ درصد) از ترشحات ریه جدا شدند. طیف سنی بیماران از ۱۸ تا ۹۲ سال متغیر بود؛ بیش از نیمی از بیماران (۳۲ نفر، ۵۴/۲ درصد) ۶۴ سال یا بیشتر داشتند، ۲۴ بیمار (۴۰/۷ درصد) بین ۳۵ تا ۶۴ سال داشتند و فقط ۳ بیمار (۵/۱ درصد) بین ۱۸ تا ۳۴ سال داشتند.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

نتایج، مقاومت تمام ایزوله‌ها را به سفوتاکسیم نشان داد. از ۵۹ ایزوله، ۵۸ ایزوله (۹۸/۳ درصد) به سفپیم، ۵۷ ایزوله

(۹۶/۶ درصد) به سیپروفلوکساسین، ۵۴ ایزوله (۹۱/۵ درصد) به مروپنم، ۵۳ ایزوله (۸۹/۸ درصد) به تتراسایکلین، ۵۲ ایزوله (۸۸/۱ درصد) به جنتامایسین و ۴۸ ایزوله (۸۱/۴ درصد) به کوتریماکسازول مقاومت نشان دادند. MIC مروپنم، ≤ ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر (مقاوم) برای ۵۴ ایزوله مقاوم به کارباپنم شناسایی‌شده در روش انتشار از دیسک بود. تعداد ۵۵ (۹۳/۲ درصد) از ۵۹ ایزوله، فنوتیپ MDR را نشان دادند. رایج‌ترین الگو، مقاومت به تمام هفت آنتی‌بیوتیک مورد بررسی بود که در ۴۵ از ۵۹ ایزوله (۷۶/۳ درصد) دیده شد و پس از آن، الگوی مقاومت به شش آنتی‌بیوتیک در هفت ایزوله (۱۱/۹ درصد) مشاهده شد. به‌طور کلی، ایزوله‌ها هشت الگوی متفاوت مقاومت ضدمیکروبی را نشان دادند (جدول ۲).

فراوانی ژن‌های کدکنندهٔ کارباپنماز

در بین متالو بتالاکتامازهای مورد بررسی، bla_{VIM} در ۵۳ از ۵۹ ایزوله (۸۹/۸ درصد) یافت شد، درحالی‌که ژن‌های bla_{NDM} و bla_{IMP} شناسایی نشدند. PCR با هدف شناسایی کارباپنمازهای نوع OXA نشان داد که از ۵۹ ایزوله، ۴۶ ایزوله (۷۸ درصد) دارای $bla_{OXA-24-like}$ و به‌دنبال آن، ۲۹ ایزوله (۴۹/۲ درصد) دارای $bla_{OXA-23-like}$ و شش ایزوله (۱۰/۲ درصد) دارای $bla_{OXA-58-like}$ بودند. در تعداد ۲۲ ایزوله (۳۷/۳ درصد)، توالی الحاقی IS*Aba1* در بالادست ژن $bla_{OXA-51-like}$ شناسایی شد. در ۵۳ ایزوله (۸۹/۸ درصد) حضور هم‌زمان ژن‌های OXA و متالوبتالاکتاماز مشاهده شد. رایج‌ترین الگوها، الگوی IS*Aba1*-bla_{OXA-51}، $bla_{OXA-24-like}$، bla_{VIM} و همچنین الگوی $bla_{OXA-23-like}$، $bla_{OXA-24-like}$ و bla_{VIM} بودند که هرکدام در هجده ایزوله شناسایی شدند. الگوهای با کمترین توزیع، الگوی $bla_{OXA-58-like}$، $bla_{OXA-24-like}$ و همچنین الگوی $bla_{OXA-58-like}$، $bla_{OXA-23-like}$ بودند که هرکدام فقط در یک ایزوله یافت شدند. از نظر الگوی ژنوتیپی مقاومت، ایزوله‌ها نُه الگوی متفاوت را نشان دادند (جدول ۲).

جدول ۲. مشخصات ۵۹ ایزولهٔ *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از عفونت دستگاه تنفسی بیماران بستری در دو بیمارستان براساس الگوی مقاومت

الگوی فنوتیپی مقاومت*	الگوی ژنوتیپی مقاومت	بخش	محل بیمارستان	تعداد ایزوله
MEN, TE, SXT, CTX, GM, CP, FEP	IS*Aba1*-$bla_{OXA-51-like}$, $bla_{OXA-23-like}$, bla_{VIM}	ICU	کرمانشاه	۱
	IS*Aba1*-$bla_{OXA-51-like}$, $bla_{OXA-24-like}$, bla_{VIM}	ICU	کرمانشاه	۱۵
		بستری عمومی	کرمانشاه	۱
		جراحی زنان	کرمانشاه	۱
	$bla_{OXA-24-like}$, bla_{VIM}	ICU	کرمانشاه	۳
		بستری عمومی	کرمانشاه	۱
		ICU	سنندج	۱
	$bla_{OXA-23-like}$, $bla_{OXA-24-like}$, bla_{VIM}	ICU	کرمانشاه	۵
		ICU	سنندج	۷
		بستری عمومی	کرمانشاه	۲
		جراحی	کرمانشاه	۱
	$bla_{OXA-23-like}$, bla_{VIM}	ICU	کرمانشاه	۵
	IS*Aba1*-$bla_{OXA-51-like}$, $bla_{OXA-23-like}$, $bla_{OXA-24-like}$, bla_{VIM}	ICU	کرمانشاه	۱
	$bla_{OXA-58-like}$	ICU	سنندج	۱

۱	کرمانشاه	ICU	IS*Aba1*-*bla*$_{OXA-51-like}$, *bla*$_{OXA-23-like}$, *bla*$_{VIM}$	MEN, TE, CTX, GM, CP, FEP
۱	کرمانشاه	ICU	*bla*$_{OXA-23-like}$, *bla*$_{OXA-24-like}$, *bla*$_{VIM}$	
۱	کرمانشاه	نورولوژی		
۱	سنندج	ICU		
۱	کرمانشاه	ICU	IS*Aba1*-*bla*$_{OXA-51-like}$, *bla*$_{OXA-23-like}$, *bla*$_{OXA-24-like}$, *bla*$_{VIM}$	
۱	کرمانشاه	ICU	*bla*$_{OXA-23-like}$, *bla*$_{VIM}$	
۱	کرمانشاه	ICU	*bla*$_{OXA-24-like}$, *bla*$_{VIM}$	MEN, TE, SXT, CTX, CP, FEP
۱	کرمانشاه	ICU	IS*Aba1*-*bla*$_{OXA-51-like}$, *bla*$_{OXA-24-like}$, *bla*$_{VIM}$	MEN, CTX, GM, CP, FEP
۲	سنندج	ICU	*bla*$_{OXA-58-like}$	CTX, CP, FEP
۱	کرمانشاه	ICU	*bla*$_{OXA-24-like}$, *bla*$_{VIM}$	
۱	کرمانشاه	نورولوژی	*bla*$_{OXA-58-like}$	MEN, TE, SXT, CTX, FEP
۱	سنندج	ICU	*bla*$_{OXA-24-like}$, *bla*$_{OXA-58-like}$	SXT, CTX, CP, FEP
۱	سنندج	ICU	*bla*$_{OXA-23-like}$, *bla*$_{OXA-58-like}$	CTX

*MEN مروپنم، TE تتراسایکلین، SXT تری متوپریم/سولفامتوکسازول، CTX سفوتاکسیم، GM جنتامایسین، CP سیپروفلوکساسین، FEP سفپیم. ICU, Intensive Care Unit.

تعیین ارتباط ژنتیکی ایزوله‌ها

در روش تیپ‌بندی ERIC، ایزوله‌هایی که در یک باند متفاوت بودند، تیپ‌های مختلف در نظر گرفته شدند و ایزوله‌های با الگوهای باندی غیرقابل تمایز در یک کلون قرار گرفتند (۲۳). به‌طور کلی، ایزوله‌ها ۲ تا ۵ باند را نشان دادند که اندازهٔ آن‌ها از حدود ۲۵۰ تا ۱۴۰۰ جفت باز متغیر بود (شکل ۱). بررسی الگوی قطعات، دو کلون بزرگ را در بین ایزوله‌های جداشده از هر بیمارستان نشان داد. در بیمارستان B در سنندج یک کلون شناسایی شد (کلون D) که متشکل از ۸ ایزوله بود. در بیمارستان A، یک کلون بزرگ (کلون E) شناسایی شد که دارای ۱۴ از ۴۵ ایزوله بود. جدول‌های ۳ و ۴ مشخصات اعضای این دو کلون را نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول ۳ نشان داده شده است، در کلون D، ۴ ایزوله به کارباپنم حساس و ۴ ایزوله مقاوم بودند؛ درحالی‌که تمام اعضای کلون E به کارباپنم مقاوم بودند. در کلون D، چهار الگوی مقاومت فنوتیپی و همچنین ۴ الگوی ژنوتیپی شناسایی شد. در کلون E، ۱۳ از ۱۴ ایزوله الگوی فنوتیپی به تمام آنتی‌بیوتیکهای مورد بررسی مقاومت داشتند و از نظر الگوی ژنوتیپی، ۶ الگو در این کلون شناسایی شد.

ایزوله‌های نماینده از هر الگوی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت (۲۷-۲۵) در دو کلون D و E با MLST (طرح پاستور) تیپ‌بندی و STها تعیین شدند. MLST نشان داد که ایزوله‌های نماینده در کلون D سنندج متعلق به ST جدیدی به نام ST2237 با پروفایل آللی ۶۹، ۳، ۲، ۱، ۴، ۴، و ۴ به‌ترتیب برای ۷ ژن *cpn60*، *fusA*، *gltA*، *pyrG*، *recA*، *rplB* و *rpoB* است و ایزوله‌های نماینده در کلون E کرمانشاه به ST380 با پروفایل آللی، به‌ترتیب ۲، ۲، ۲، ۲، ۴، ۲ و ۲، تعلق دارند.

جدول ۳. مشخصات ۸ ایزولهٔ کلون D شناسایی‌شده در نمونه‌های عفونت تنفسی بیماران بستری در شهر سنندج

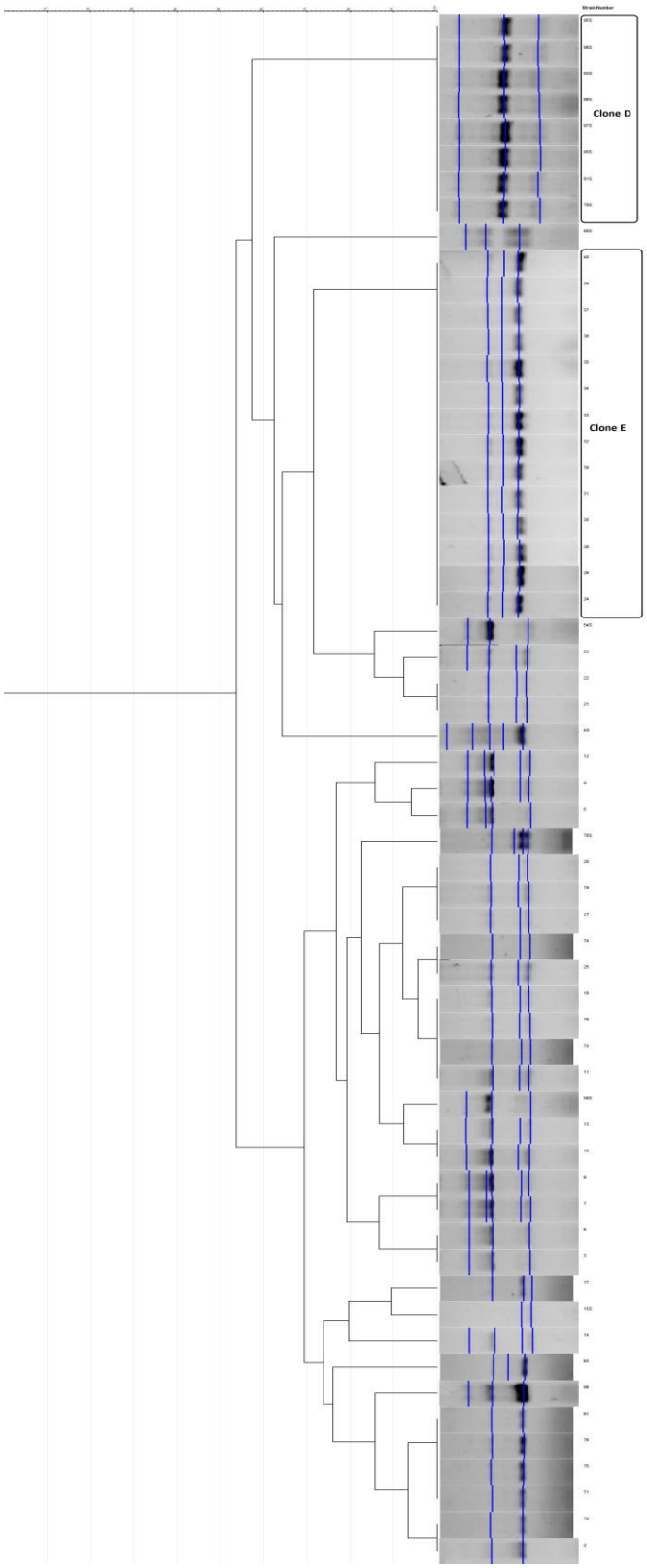
شمارهٔ ایزوله	بخش	سن (سال)	جنس	الگوی ژنوتیپی	الگوی فنوتیپی*
۷۹S	ICU	۱۹	مرد	$bla_{\text{OXA-58-like}}$	CTX, CP, FEP
۸۸S	ICU	۱۸	زن		
۹۰S	ICU	۵۱	مرد	$bla_{\text{OXA-58-like}}$	MEN, TE, SXT, CTX, GM, CP, FEP
۹۱S	ICU	۳۱	زن	$bla_{\text{OXA-23-like}}$, $bla_{\text{OXA-24-like}}$, bla_{VIM}	MEN, TE, SXT, CTX, GM, CP, FEP
۹۳S	ICU	۳۴	زن		
۹۵S	ICU	۴۹	زن		
۹۷S	ICU	۶۴	زن	$bla_{\text{OXA-23-like}}$, $bla_{\text{OXA-58-like}}$	CTX
۹۸S	ICU	۵۸	زن	$bla_{\text{OXA-24-like}}$, $bla_{\text{OXA-58-like}}$	SXT, CTX, CP, FEP

*MEN مروپنم، TE تتراسایکلین، SXT تری متوپریم/سولفامتوکسازول، CTX سفوتاکسیم، GM جنتامایسین، CP سیپروفلوکساسین، FEP سفپیم.
ICU, Intensive Care Unit.

جدول ۴. مشخصات ۱۴ ایزولهٔ کلون E شناسایی‌شده در نمونه‌های عفونت تنفسی بیماران بستری در شهر کرمانشاه

شمارهٔ ایزوله	بخش	سن (سال)	جنس	الگوی ژنوتیپی	الگوی فنوتیپی*
۲۴	ICU	۸۴	زن	$bla_{\text{OXA-23-like}}$, $bla_{\text{OXA-24-like}}$, bla_{VIM}	MEN, TE, SXT, CTX, GM, CP, FEP
۲۶	ICU	۶۰	زن		
۳۳	ICU	۴۸	زن		
۳۴	ICU	۴۵	مرد		
۳۵	ICU	۶۰	زن		
۳۱	جراحی	۶۹	مرد		
۲۹	ICU	۸۴	زن	$bla_{\text{OXA-23-like}}$, bla_{VIM}	
۳۷	ICU	۱۸	زن		
۳۰	ICU	۸۵	مرد	$bla_{\text{OXA-24-like}}$, bla_{VIM}	
۳۲	ICU	۵۲	مرد	IS*Aba1*-$bla_{\text{OXA-51-like}}$, $bla_{\text{OXA-23-like}}$, $bla_{\text{OXA-24-like}}$, bla_{VIM}	
۳۸	ICU	۷۳	مرد	IS*Aba1*-$bla_{\text{OXA-51-like}}$, $bla_{\text{OXA-23-like}}$, bla_{VIM}	
۴۰	ICU	۴۳	زن		
۳۹	ICU	۶۵	زن	IS*Aba1*-$bla_{\text{OXA-51-like}}$, bla_{VIM}	
۳۶	ICU	۳۷	زن	IS*Aba1*-$bla_{\text{OXA-51-like}}$, $bla_{\text{OXA-23-like}}$, $bla_{\text{OXA-24-like}}$, bla_{VIM}	MEN, TE, CTX, GM, CP, FEP

*MEN مروپنم، TE تتراسایکلین، SXT تری متوپریم/سولفامتوکسازول، CTX سفوتاکسیم، GM جنتامایسین، CP سیپروفلوکساسین، FEP سفپیم.
ICU, Intensive Care Unit.



شکل ۱. دندروگرام انگشت‌نگاری ERIC ۵۹ ایزولهٔ *اسینتوباکتر بومانی* جمع‌آوری‌شده از عفونت‌های تنفسی در دو بیمارستان. قطعاتی در اندازه‌های تقریبی ۲۵۰ تا ۱۴۰۰ جفت باز دیده می‌شوند. کلون D در بیمارستان سنندج و کلون E در بیمارستان کرمانشاه شناسایی شد (در شکل فقط دو کلون اصلی نشان داده شده‌اند). ایزوله‌های با پسوند S از سنندج، و ایزوله‌های دیگر از کرمانشاه جدا شدند.

بحث

عفونت‌های تنفسی *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به دارو نگرانی زیادی در سراسر جهان ایجاد کرده است. این میکروارگانیسم در کشورهای بسیاری منتشر شده و سویه‌های حساس به دارو درحال به‌دست‌آوردن ژن‌های مقاومت هستند (۲۸، ۲۹). تشخیص به‌موقع این پاتوژن‌های مقاوم در کاهش احتمال انتقال باکتری و ژن‌های مقاومت بین بیماران مفید خواهد بود (۵). مطالعات نشان داده‌اند که *اسینتوباکتر بومانی* یکی از رایج‌ترین باسیل‌های گرم منفی جداشده از عفونت‌های دستگاه تنفسی است. این باکتری در طول دو دهۀ گذشته به‌طور فزاینده‌ای در بخش‌های ICU شایع و به یکی از عوامل اصلی عفونت‌های تنفسی در ICUها تبدیل شده است (۳۰). یکی از عوامل مهم خطر برای عفونت‌های تنفسی اسینتوباکتر، سن بالا (بالای ۶۴ سال) است (۳۱). در مطالعۀ ما، از ۵۹ ایزولۀ *اسینتوباکتر بومانی* جمع‌آوری‌شده از عفونت دستگاه تنفسی بیماران بستری، ۸۶/۴ درصد ایزوله‌ها از ICU جدا شدند و بیش از نیمی از بیماران (۵۴/۲ درصد) ۶۴ سال یا بیشتر سن داشتند.

مقاومت درحال افزایش به داروها، درمان عفونت‌های شدید ناشی از *اسینتوباکتر بومانی* را بسیار دشوار کرده است (۲۸). در مطالعۀ ما، ایزوله‌ها مقاومت زیادی به کلاس‌های دارویی کارباپنم (۹۱/۵ درصد) و همچنین سفالوسپورین‌ها (۹۸/۳ تا ۱۰۰ درصد)، فلوروکینولون (۹۶/۶ درصد)، تتراسایکلین (۸۹/۸ درصد)، کوتریموکسازول (۸۱/۴ درصد) و آمینوگلیکوزید (۸۸/۱ درصد) نشان دادند؛ به‌طوری که ۹۳/۲ درصد ایزوله‌ها MDR بودند. مطالعات دیگر نیز مقاومت زیاد *اسینتوباکتر بومانی* را نشان داده‌اند. یک مطالعۀ مقطعی در تهران روی ۵۸ *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از بیماران مبتلابه پنومونی مرتبط با ونتیلاتور در ICU یک بیمارستان، مقاومت زیاد ایزوله‌ها را به فلوروکینولون (۱۰۰ درصد)، کارباپنم‌ها (مروپنم: ۹۳/۱ درصد، ایمی‌پنم ۷۰/۷ درصد) و آمینوگلیکوزیدها (جنتامایسین ۴۱/۴ درصد) نشان داد (۳۲). مطالعۀ دیگری در هند نشان داد که *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از عفونت‌های تنفسی به پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، سفالوسپورین‌ها (۱۰۰ درصد)، کارباپنم (۹۶ درصد) و فلوروکینولون (۹۶ درصد) مقاوم بودند (۳۰). یافته‌های مشابهی نیز در چین گزارش شد که نشان داد *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از پنومونی به سفتازیدیم ۹۵/۵ درصد، به سیپروفلوکساسین ۹۵/۵ درصد، به سفپیم ۹۰/۹ درصد، به جنتامایسین ۹۵/۵ درصد، به ایمی‌پنم ۹۰/۹ درصد و به آمیکاسین ۷۲/۷ درصد مقاوم بودند (۳۳). اگرچه پلی‌میکسین‌ها و ترکیبات مهارکنندۀ بتالاکتاماز مقابل عفونت‌های *اسینتوباکتر بومانی* مؤثرند، اخیراً مقاومت در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها نیز گزارش شده است (۶، ۳۰).

آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم اغلب آخرین انتخاب برای درمان عفونت‌های جدی ناشی از *اسینتوباکتر بومانی* هستند، اما مقاومت درحال افزایش به کارباپنم، درمان را بسیار دشوار کرده است (۲). در مطالعۀ ما، نقش کارباپنمازهای نوع OXA و متالو بتالاکتامازها در مقاومت به کارباپنم در ایزوله‌های جداشده از دو بیمارستان مشاهده شد. از بین متالو بتالاکتامازهای مورد بررسی، ۸۹/۸ درصد ایزوله‌ها دارای ژن bla_{VIM} بودند، درحالی‌که ژن‌های bla_{NDM} و bla_{IMP} یافت نشدند. متالوبتالاکتامازهای نوع VIM در مقایسه با انواع دیگر متالوبتالاکتامازها، با مرگ‌ومیر بیشتری همراه هستند (۳۴). همچنین، درصد بالایی از ایزوله‌ها دارای $bla_{\mathrm{OXA\text{-}24\text{-}like}}$ بودند (۷۸ درصد) و تقریباً نیمی از ایزوله‌ها (۴۹/۲ درصد) دارای $bla_{\mathrm{OXA\text{-}23\text{-}like}}$ بودند، درحالی‌که تعداد کمی از ایزوله‌ها (۱۰/۲ درصد) حاوی $bla_{\mathrm{OXA\text{-}58\text{-}like}}$ بودند. در تقریباً ۴۰ درصد ایزوله‌ها توالی IS*Aba1* در بالادست $bla_{\mathrm{OXA51\text{-}like}}$ یافت شد.

مشابه مطالعۀ ما، اکثر عفونت‌های بیمارستانی *اسینتوباکتر بومانی* در سال‌های اخیر با سویه‌های مقاوم به کارباپنم ایجاد شده است. مطالعه‌ای در هند مقاومت بالای *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از پنومونی را به ایمی‌پنم ۸۵/۹ درصد و

مروپنم ۶۵/۲ درصد نشان داد. ژن‌های bla_{VIM} در ۴۸/۶ درصد و bla_{NDM} در ۴۰/۵ درصد ایزوله‌ها یافت شدند؛ در حالیکه هیچ ایزوله‌ای حاوی bla_{IMP} نبود (۳۴). در مطالعه دیگری در هند روی *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به کارباپنم جداشده از پنومونی، ژن $bla_{OXA-23-like}$ در ۹۷ درصد ایزوله‌ها شناسایی شد و پس از آن، bla_{NDM} در ۱۰ درصد ایزوله‌ها و bla_{VIM} در ۶ درصد ایزوله‌ها مشاهده شدند (۳۵). در یک مطالعه در شمال شرق چین، با هدف بررسی ژنوتیپ و مقاومت دارویی *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از پنومونی مرتبط با ونتیلاتور طی هفت سال، میزان مقاومت دارویی ۶۴/۸ درصد برای کارباپنم‌ها، بیش از ۵۰ درصد برای سفتازیدیم، آمپی‌سیلین-سولباکتام و پیپراسیلین-تازوباکتام و بیش از ۸۰ درصد برای سفپیم مشاهده شد. همچنین سویه‌ها برای سه آنتی‌بیوتیک کینولون (جمیفلوکساسین، سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین)، میزان مقاومت بیش از ۵۰ درصد نشان دادند. ژن bla_{IMP} فراوانی ۸۷/۶ درصد، bla_{VIM} فراوانی ۹/۵ درصد، ژن $bla_{OXA-58-like}$ فراوانی ۱۰/۵ درصد، $bla_{OXA23-like}$ فراوانی ۸۲/۹ درصد و ژن $bla_{OXA24-like}$ فراوانی ۷۸/۱ درصد داشتند (۴).

ارزیابی‌ها در جهان نشان می‌دهد که میزان مقاومت چند دارویی در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* بسیار بالاتر از میزان یافت شده در سایر باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زاست و میزان مقاومت چند دارویی در مناطق کم‌درآمد، مانند آمریکای لاتین و خاورمیانه، بالاتر است. در سال ۲۰۲۱، Rizk و همکارانش انتشار گستردهٔ سویه‌های MDR و مقاوم به کارباپنم را در کشورهای درحال‌توسعه گزارش کردند (۳۶). سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* می‌توانند ژن‌های $bla_{OXA-23-like}$ و $bla_{OXA24-like}$ را روی ساختارهای متحرک، حمل و این ژن‌ها را به‌صورت افقی به سویه‌های دیگر منتقل کنند (۳۷). همچنین، اگرچه ژن $bla_{OXA-51-like}$ روی کروموزوم قرار دارد، $bla_{OXA-51-like}$ و IS*Aba1* بالادست آن می‌توانند همراه هم بین ایزوله‌ها منتقل شوند (۳۸). این مسئله ممکن است مدیریت عفونت‌های *اسینتوباکتر بومانی* را پیچیده‌تر کند.

در محدودکردن عفونت و هدایت اقدامات کنترل عفونت، تعیین خویشاوندی بین ایزوله‌ها می‌تواند بسیار حیاتی باشد. نتایج ERIC وجود دو کلون بزرگ را در بین ۵۹ ایزوله جداشده از دو بیمارستان نشان داد. کلون D در سنندج شامل ۸ از ۱۴ ایزوله بود. وجود هم‌زمان سویه‌های حساس و مقاوم به کارباپنم در این کلون پیشنهاد می کند که ممکن است انتقال افقی ژن‌های مقاومت حداقل در میان برخی از ایزوله‌ها رخ داده باشد (۵). بررسی انتقال DNA و تحرک احتمالی ژن‌ها در این ایزوله‌ها برای بررسی رخداد انتقال افقی ژن مفید است. در کرمانشاه، بزرگ‌ترین کلون، کلون E بود که شامل ۱۴ از ۴۵ ایزوله بود. همهٔ اعضای این کلون به کارباپنم مقاوم بودند و الگوهای مقاومت ژنوتیپی و فنوتیپی تقریباً یکسانی داشتند؛ این موضوع ممکن است نشان‌دهندهٔ انتقال متقاطع ایزوله‌ها بین بیماران در داخل ICU ها باشد (۵). MLST نشان داد که ایزوله‌های نماینده از کلون‌های E و D به‌ترتیب متعلق به ST380 و یک ST جدید به نام ST2237 بودند. کلون‌های موفق *اسینتوباکتر بومانی* در سراسر جهان عمدتاً به مجموعهٔ محدودی از STها، ازجمله ST2، ST25 و ST78 متعلق هستند. این کلون‌های رایج اغلب ژن‌های مقاوم به کارباپنم، مانند بتالاکتامازهای کلاس D، را حمل می‌کنند و به مقاومت چند دارویی تمایل دارند (۳۹).

درحال‌حاضر، با دانش ما، هیچ گزارشی دربارهٔ خصوصیات ST2237 *اسینتوباکتر بومانی* وجود ندارد. بنابراین، داده‌ای دربارهٔ مقاومت، اپیدمیولوژی یا اهمیت بالینی آن برای ارجاع و مقایسه یافت نشد. ST380 در *اسینتوباکتر بومانی* شناسایی شده است، اما به نظر نمی‌رسد که جزو کلون‌های گسترده و پرخطر باشد. مطالعه‌ای روی *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو، دستهٔ کوچکی از ایزوله‌های مقاوم به کارباپنم ST380 را در میان STهای دیگر شناسایی کرد که شامل ST203 (۱ ایزوله)،

ST380 (۲ ایزوله)، ST499 (۲ ایزوله) و ST667 (۱ ایزوله) بودند (۴۰)، اما هیچ گزارشی دربارهٔ مقاومت، عوامل بیماری‌زایی، پتانسیل شیوع یا ویژگی‌های ژنومی آن وجود ندارد. اگرچه در مطالعهٔ ما، ST2237 و ST380 به‌صورت منطقه‌ای یافت شدند و باید به‌عنوان STهای محدود در نظر گرفته شوند، با توجه به وجود ژن‌های مقاومت این احتمال وجود دارد که در آینده گستردگی بیشتری یابند. تشخیص ژن‌های مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها علاوه‌بر کارباپنم‌ها، در این STها داده‌های بیشتری را فراهم می‌کند. اجرای شیوه‌های کنترل عفونت از طریق آموزش کارکنان، مانند آگاهی از بهداشت دست، مراقبت ضدمیکروبی، یا غربالگری و ضدعفونی محیطی راهکارهای کلیدی برای جلوگیری از گسترش عفونت بیشتر *اسینتوباکتر بومانی* در مناطق کم‌برخوردار و با بودجهٔ محدود است که در آن‌ها امکانات جداسازی بیماران ممکن است در دسترس نباشد (۲۸، ۲۹).

نتیجه‌گیری

در مطالعهٔ حاضر، سطح نگران‌کننده‌ای از مقاومت به کارباپنم در *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از عفونت‌های دستگاه تنفسی مشاهده شد. وجود ژن متالوبتالاکتاماز bla_{VIM} و ژن‌های $bla_{\text{OXA-23-like}}$، $bla_{\text{OXA-24-like}}$ و IS*Aba1*-$bla_{\text{OXA-51-like}}$ می‌تواند مسئول مقاومت به کارباپنم در میان ایزوله‌ها باشد. ارتباط ژنتیکی مشاهده‌شده ممکن است به انتقال متقاطع ایزوله‌ها بین بیماران و همچنین انتقال افقی ژن‌های مقاومت اشاره داشته باشد. درحال‌حاضر، ST380 و ST2237 کلون‌های پرخطری نیستند، اما این امکان وجود دارد که به کلون‌های در گردش عامل شیوع‌های گسترده تبدیل شوند. تشخیص به‌موقع این سویه‌ها برای کمک به کنترل عفونت و کاهش شیوع سویه‌های مقاوم به دارو در بیمارستان‌ها، به‌ویژه در ICUها، مفید خواهد بود.

تشکر و قدردانی

در این مطالعه از تجهیزات آزمایشگاه جامع تحقیقات معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان استفاده شده است. تأییدیهٔ اخلاقی پژوهش حاضر از کمیتهٔ اخلاق پژوهشی دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کردستان (کد اخلاق: IR.MUK.REC.1401.402) اخذ شد. تمامی روش‌ها مطابق با دستورالعمل‌ها و مقررات مربوطه انجام شد. این مطالعه از پایان‌نامهٔ دانشجوی کارشناسی ارشد استخراج شده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی کردستان بوده است. نویسندگان تضاد منافعی اعلام نکرده‌اند.

منابع

1. Sarshar M, Behzadi P, Scribano D, Palamara AT, Ambrosi C. Acinetobacter baumannii: an ancient commensal with weapons of a pathogen. Pathogens. 2021;10(4):387.
2. Yao Y, Chen Q, Zhou H. Virulence factors and pathogenicity mechanisms of Acinetobacter baumannii in respiratory infectious diseases. Antibiotics. 2023;12(12):1749.
3. Organization WH. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance, to guide research, development, and strategies to prevent and control antimicrobial resistance: World Health Organization; 2024.
4. Zhang T, Xu X, Xu CF, Bilya SR, Xu W. Mechanical ventilation-associated pneumonia caused by Acinetobacter baumannii in Northeast China region: analysis of genotype and drug resistance of bacteria and patients' clinical features over 7 years. Antimicrobial Resistance & Infection Control. 2021;10(1):135.
5. Jain M, Sharma A, Sen M, Rani V, Gaind R, Suri J. Phenotypic and molecular characterization of Acinetobacter baumannii isolates causing lower respiratory infections among ICU patients. Microbial Pathogenesis. 2019;128:75-81.

6. Vázquez-López R, Solano-Gálvez SG, Juárez Vignon-Whaley JJ, Abello Vaamonde JA, Padró Alonzo LA, Rivera Reséndiz A, et al. Acinetobacter baumannii resistance: a real challenge for clinicians. Antibiotics. 2020;9(4):205.
7. Singh S, Verma A, Venkatesh V, Verma S, Reddy DH, Agrawal A. The clinical impression of NDM-producing Acinetobacter baumannii in intensive care units of the University Referral Hospital in North India. Indian Journal of Critical Care Medicine: Peer-reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine. 2024;28(11):1044.
8. Aljindan R, Alsamman K, Elhadi N. ERIC-PCR genotyping of Acinetobacter baumannii isolated from different clinical specimens. Saudi Journal of Medicine & Medical Sciences. 2018;6(1):13-7.
9. Zhao Y, Hu K, Zhang J, Guo Y, Fan X, Wang Y, et al. Outbreak of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii carrying the carbapenemase OXA-23 in ICU of the eastern Heilongjiang Province, China. BMC Infectious Diseases. 2019;19(1):452.
10. Diancourt L, Passet V, Nemec A, Dijkshoorn L, Brisse S. The population structure of Acinetobacter baumannii: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. PloS One. 2010;5(4):e10034.
11. Giordano A, Varesi P, Bertini A, Villa L, Dionisi AM, Venditti M, et al. Outbreak of Acinetobacter baumannii producing the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-58 in Rome, Italy. Microbial Drug Resistance. 2007;13(1):37-43.
12. Tille P. Bailey & Scott's diagnostic microbiology: 15th edition. London: Elsevier Health Sciences; 2022; 362-369.
13. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of Acinetobacter baumannii by detection of the bla OXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. Journal of Clinical Microbiology. 2006;44(8):2974-6.
14. Higgins P, Wisplinghoff H, Krut O, Seifert H. A PCR-based method to differentiate between Acinetobacter baumannii and Acinetobacter genomic species 13TU. Clinical Microbiology and Infection. 2007;13(12):1199-201.
15. Wayne P. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 2020;46-49.
16. Schwessinger B. DNA quality control by agarose gel electrophoresis. 2024;e1-e7.
17. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2011;70(1):119-23.
18. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in Acinetobacter spp. International Journal of Antimicrobial Agents. 2006;27(4):351-3.
19. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of IS Aba1 in expression of OXA carbapenemase genes in Acinetobacter baumannii. FEMS Microbiology Letters. 2006;258(1):72-7.
20. OEPP E, EPPO P. 7/100 (1): Rep-PCR Tests for identification of bacteria. Bulletin OEPP/EPPO. 2010;40:365-8.
21. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical Microbiology and Infection. 2012;18(3):268-81.
22. Heras J, Domínguez C, Mata E, Pascual V, Lozano C, Torres C, et al. GelJ–a tool for analyzing DNA fingerprint gel images. BMC Bioinformatics. 2015;16(1):270.
23. Tien YY, Wang YW, Tung SK, Liang SY, Chiou CS. Comparison of multilocus variable-number tandem repeat analysis and pulsed-field gel electrophoresis in molecular subtyping of Salmonella enterica serovars Paratyphi A. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2011;69(1):1-6.
24. Wilson LA, Sharp PM. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC) sequences in Escherichia coli: Evolution and implications for ERIC-PCR. Molecular Biology and Evolution. 2006;23(6):1156-68.

25. Meshkat Z, Amini Y, Sadeghian H, Salimizand H. ISAba1/blaOXA-23-like family is the predominant cause of carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii and Acinetobacter nosocomialis in Iran. Infection, Genetics and Evolution. 2019;71:60-6.
26. Adamek M, Overhage J, Bathe S, Winter J, Fischer R, Schwartz T. Genotyping of environmental and clinical Stenotrophomonas maltophilia isolates and their pathogenic potential. PloS One. 2011;6(11):e27615.
27. Tavares LCB, Vasconcellos FMd, Sousa WVd, Rocchetti TT, Mondelli AL, Ferreira AM, et al. Emergence and persistence of high-risk clones among MDR and XDR A. baumannii at a Brazilian teaching hospital. Frontiers in Microbiology. 2019;9:2898.
28. Molter G, Seifert H, Mandraka F, Kasper G, Weidmann B, Hornei B, et al. Outbreak of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii in the intensive care unit: a multi-level strategic management approach. Journal of Hospital Infection. 2016;92(2):194-8.
29. Gottesman T, Fedorowsky R, Yerushalmi R, Lellouche J, Nutman A. An outbreak of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii in a COVID-19 dedicated hospital. Infection Prevention in Practice. 2021;3(1):100113.
30. Koul N, Kakati B, Agarwal S, Mittal G. Multidrug resistant Acinetobacter baumannii causing Ventilator associated respiratory infections at a tertiary care center of India. International Journal of Medical Microbiology and Tropical Diseases. 2022;8:15-8.
31. Canduela MJ, Gallego L, Sevillano E, Valderrey C, Calvo F, Pérez J. Evolution of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolates obtained from elderly patients with respiratory tract infections. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006;57(6):1220-2.
32. García ARP, García ARP, Castillo YT, Agramonte MG. Ventilator associated pneumonia by Acinetobacter baumannii. Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias. 2016;15(1):59-69.
33. Huang Y, Zhou Q, Wang W, Huang Q, Liao J, Li J, et al. Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia: Clinical efficacy of combined antimicrobial therapy and in vitro drug sensitivity test results. Frontiers in Pharmacology. 2019;10:92.
34. Kumari M, Verma S, Venkatesh V, Gupta P, Tripathi P, Agarwal A, et al. Emergence of blaNDM-1 and blaVIM producing Gram-negative bacilli in ventilator-associated pneumonia at AMR Surveillance Regional Reference Laboratory in India. PLoS One. 2021;16(9):e0256308.
35. Goenka S, Jain M, Wanswett W, Loomba P, Sharma A, Mishra B. Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii: prevalence, phenotypic and genotypic analysis in cases of ventilator associated pneumonia from a teaching hospital in Delhi, India. Indian Journal of Medical Microbiology. 2025;56:100894.
36. Rizk SS, Elwakil WH, Attia AS. Antibiotic-resistant Acinetobacter baumannii in low-income countries (2000–2020): twenty-one years and still below the radar, is it not there or can they not afford to look for it? Antibiotics. 2021;10(7):764.
37. Da Silva GJ, Domingues S. Insights on the horizontal gene transfer of carbapenemase determinants in the opportunistic pathogen Acinetobacter baumannii. Microorganisms. 2016;4(3):29.
38. Zhao Y, Hu K, Zhang J, Guo Y, Fan X, Wang Y, et al. Outbreak of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii carrying the carbapenemase OXA-23 in ICU of the eastern Heilongjiang Province, China. BMC Infectious Diseases. 2019;19:1-7.
39. 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(3):119.
40. Chaney D, Doucette M, Brandeburg C, Cumming M, Bolstorff B, Onofrey S, et al. Using pandemic-era longitudinal surveillance data to improve investigations of carbapenem-resistant acinetobacter baumannii clusters. Public Health Reports. 2025;140(5-6):461-7.