

## بررسی نقش اینتگرون کلاس ۲ در الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از بیمارستان های شهر تهران

دکتر رضا میرنژاد\* ، سپیده مستوفی\*\* ، فرامرز مسجدیان\*\*\*

دریافت : ۹۰/۴/۲۴ ، پذیرش : ۹۰/۸/۲

### چکیده:

**مقدمه و هدف:** اسینتوباکتر بومانی که به چندین دارو مقاومت نشان می دهد، یک عامل مهم عفونت بیمارستانی در سراسر دنیا بوده و برای بهداشت عمومی تهدید می باشد. مطالعات مکانیسم های مقاومت دارویی در این باکتریها نشان داد که ژنهای مقاومت دارویی بروی اینتگرون ها قرار دارد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین نقش اینتگرون کلاس ۲ در الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از بیمارستان های شهر تهران بود.

**روش کار:** این مطالعه توصیفی - مقطعی در ۳ بیمارستان بزرگ شهر تهران بروی ۵۰۰ نمونه کلینیکی در طی مدت ۱۰ ماه (اسفند ۱۳۸۸ تا آذر ۱۳۸۹) انجام شد. در آزمایشگاه، پس از شناسائی اسینتوباکتر بومانی با استفاده از روش های کشت و بیوشیمیائی، تعیین حساسیت این باکتریها به ۱۳ آنتی بیوتیک با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و بر اساس معیار CLSI انجام شد. سپس با استفاده از پرایمرهای Int2F/R جهت بررسی انتشار ژن هایی که حاوی اینتگرون کلاس ۲ هستند، PCR انجام گردید. در نهایت ارتباط بین وجود اینتگرون کلاس ۲ و مقاومت دارویی مورد مطالعه قرار گرفت.

**نتایج:** از مجموع ۵۰۰ نمونه کلینیکی، ۵۰ مورد (٪۱۱/۵) اسینتوباکتر بومانی، ۱۲ مورد (٪۱۷) اسینتوباکتر لوفی و ۸ مورد (٪۱۱/۵) سایر گونه های اسینتوباکتر تشخیص داده شدند. در تست آنتی بیوگرام، اسینتوباکتر بومانی مقاومت بسیار بالائی نسبت به سفی پیم، سفنازیدیم، آزترونام، نورفلوکساسین، سیپروفلوکساسین، اوفلوکساسین و آمیکاسین نشان داد. همچنین مقاومت کمتری نسبت به ایمی پنم، جنتامیسین، آمپی سیلین - سولباکتام، پایپرسیلین - تازوباکتام مشاهده شد. مروپنم و توبرامیسین، موثرترین آنتی بیوتیک ها در این بررسی بودند. در ۴۱ مورد (٪۸۲) از نمونه ها اینتگرون کلاس ۲ شناسائی شد. همچنین ارتباط معنی داری میان اینتگرون ها و مقاومت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، اوفلوکساسین، سفنازیدیم، سفپیم، آزترونام و آمیکاسین مشاهده شد.

**نتیجه نهائی:** نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که اینتگرون کلاس ۲ بطور وسیعی در بین اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده در شهر تهران انتشار دارد و نقش مهمی در اکتساب مقاومت به چند دارو در این باکتری ها دارد. بنابراین مونتورینگ مقاومت دارویی ناشی از اینتگرون ها به خصوص کلاس ۲ با استفاده از PCR، در پروتکل های کنترل عفونت ناشی از سویه های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو در بیمارستانهای مختلف شهر تهران دارای اهمیت می باشد.

**کلید واژه ها:** اسینتوباکتر بومانی / اینتگرون کلاس ۲ / مقاومت همزمان به چند دارو

### مقدمه :

سویه های اسینتوباکتر بومانی معمولاً در خاک و آب یافت می شوند، ولی منشأ سویه های اپیدمیک مقاوم به چند دارویی آن از بیمارستان می باشد و این سویه ها معمولاً از لحاظ ژنتیکی بسیار شبیه به هم هستند (۳-۶). توانایی این ارگانسیم برای دست یابی به مکانیسمهای

اسینتوباکتر بومانی یک پاتوزن فرصت طلب در حال گسترش می باشد که گروه های مختلفی از مردم، به ویژه بیماران بستری شده در بخش مراقبت های ویژه و بخش سوختگی را تحت تاثیر قرار می دهد (۱-۳) اگرچه

\* استادیار میکروبیولوژی مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) (rmirnejadrez@yahoo.com)

\*\* کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی دانشگاه آزاد واحد تهران شمال

\*\*\* عضو هیأت علمی گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

'CS-5 احاطه شده اند. طراحی پرایمر برای ناحیه متغیر به نحوی که ناحیه اتصالی در انتهای دو منطقه حفاظت شده باشد به محققین این امکان را می دهد که از طول ناحیه متغیر آگاه شوند. به علت اینکه طول ناحیه متغیر وابسته به تعداد کاست های ژنی، اینتگره شده در این ناحیه است، محصولات PCR دارای طول های مختلفی هستند. این به محقق علاوه بر تشخیص کلاس اینتگرون ( بر اساس اینکه پرایمر برای ناحیه متغیر کلاس ۱ یا ۲ و یا سایر کلاس های اینتگرونی طراحی شود) در شناسائی تعداد و تشخیص کاست های ژنی کمک می کند(۱۰-۱۳).

در قسمت های مختلف جهان مطالعاتی جهت تعیین میزان شیوع کلاس های مختلف اینتگرون ها و ارتباط آنها با مقاومت دارویی در ایزوله های مختلف بیمارستانی اسینتوباکتر بومانی انجام شده است(۱۱). به دلیل اینکه تاکنون در ایران میزان شیوع کلاس ۲ اینتگرون ها به خصوص در اسینتوباکتر بومانی مشخص نمی باشد، این مطالعه با هدف تعیین میزان شیوع اینتگرون کلاس ۲ و ارتباط حضور آنها با مقاومت دارویی در ایزوله های مختلف بیمارستانی اسینتوباکتر بومانی در شهر تهران انجام گردید.

### روش کار:

ایزوله های باکتریایی: این مطالعه توصیفی - مقطعی در ۳ بیمارستان بزرگ شهر تهران ( امام خمینی، بقیه ا... (عج) و میلاد) بروی ۵۰۰ نمونه کلینیکی در طی مدت ۱۰ ماه (اسفند ۱۳۸۸ تا آذر ۱۳۸۹) انجام شد. در آزمایشگاه ۵۰ ایزوله اسینتوباکتر بومانی از ۱۹ کشت خون، ۱۵ نمونه از تراشه، ۶ نمونه از سوآب های زخم، ۴ نمونه از ادرار و ۵ نمونه نیز که منشا نامعلوم داشتند جمع آوری شدند. همه این ایزوله ها توسط روشهای متداول بیوشیمیایی و میکروسکوپی شناسائی شدند (جدول ۱). ایزوله ها در ۸۰- درجه سلسیوس در نوترینت برات که حاوی ۵۰٪ گلیسرول بود تا زمان انجام کارهای مولکولی نگهداری شدند.

جدول ۱: فراوانی سویه های اسینتوباکتر بومانی

بر حسب نوع نمونه بالینی		
نوع نمونه	تعداد	درصد
خون	۱۹	۳۸
تراشه	۱۵	۳۰
زخم	۶	۱۲
ادرار	۴	۸
دهان	۱	۲
نمونه های با منشا نامعلوم	۵	۱۰

متفاوتی از مقاومت و نیز مقاوم شدن بعضی از سویه ها به تمام آنتی بیوتیکهای رایج قابل دسترسی و همچنین فقدان داروهای ضد میکروبی جدید و موثر از مهمترین علل ایجاد کننده خطر در این باکتری می باشند(۶،۷). مطالعات مختلف نشان می دهند که اغلب سویه های اسینتوباکتر بومانی نسبت به اکثر آنتی بیوتیک ها مقاوم شده اند و این سویه های مقاوم به چند دارو به سرعت در بین بیماران بستری در بیمارستان در حال گسترش می باشند(۸،۹). عناصر متحرکی مانند پلاسمیدها، ترانسپوزون ها و اینتگرون ها از موثرترین عناصر ژنتیکی هستند که در اکتساب و پخش عوامل مقاومت در باکتریهای مختلف گرم منفی به خصوص سویه های اسینتوباکتر بومانی نقش دارند و در این بین، مطالعات مختلف نشان می دهند که مقاومت چند دارویی در این باکتری ها به صورت قابل ملاحظه ای در ارتباط با وجود اینتگرون ها و کاست های ژنی می باشند(۱۰).

اینتگرونها توالی هائی از DNA حفاظت شده بنام intI می باشند که ژن اینتگراز را کد می کنند و باعث انتقال و الحاق کاست های ژنی از طریق مکانیسم های نو ترکیبی در جایگاه های ویژه می شوند(۱۱). تاکنون چهار گروه اصلی اینتگرون ها در باکتریهای گرم منفی و مثبت شرح داده شده اند. تمام اینتگرون ها دارای ناحیه حفاظت شده (5'CS) و (3'CS) و حاوی ژن های intI و attI می باشند. اینتگرونهای کلاس ۱ شایع ترین اینتگرون در بین باکتری گرم منفی می باشند. اینتگرون ها کلاس ۲ در ترانس پوزون Tn7 و مشتقات آن یافت می شود و ناحیه ی محافظت شده ی ۳' آن حاوی پنج ژن tns می باشد که در متحرک کردن ترانسپوزون ها نقش دارند. اینتگرونهای کلاس سوم و چهارم نیز گزارش شده اند ولی هنوز ناحیه ی ۳' حفاظت شده ی آن ها به خوبی بررسی نشده است(۱۰،۱۲،۱۳).

برای تشخیص حضور اینتگرونهای کلاس ۲، محققین به طور معمول از دو ناحیه به عنوان نواحی هدف برای شناسائی در باکتریها استفاده کرده اند. یکی از این نواحی ژن آنزیم اینتگراز است، که هدف خوبی برای شناسائی اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در نمونه و همچنین تشخیص کلاس اینتگرون موجود می باشد. یکی دیگر از نواحی مورد استفاده توسط اکثر محققین، ناحیه متغییر (Variable region) در بین دو ناحیه حفظ شده در ساختار اینتگرون ها است. ناحیه متغیر اینتگرون ها محل قرار گیری کاست های ژنی می باشد، که توسط دو ناحیه حفاظت شده 'CS-3 و

آمپلی فای کردن قطعه با اندازه ۲۸۸ جفت بازی مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲).

جدول ۲: توالی پرایمرها

پرایمرها	سکانس نوکلئوتیدها (۵' به سمت ۳')
5'-CSa	GGC ATC CAA GCA GCA AG
3'-CSa	AAG CAG ACT TGA CCT GA
Int2F	TTG CGA GTA TCC ATA ACC TG
Int2R	TTA CCT GCA CTG GAT TAA GC

فرایند PCR در دستگاه ترموسایکلر شامل ۵ دقیقه ۹۵ درجه سلسیوس، بدنبال آن ۳۰ سیکل ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سلسیوس، ۳۰ ثانیه در ۵۵ درجه سلسیوس مرحله Annealing و ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سلسیوس و در نهایت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس انجام گرفت. تمام آزمایشات بر روی محصولات PCR دوبار تکرار شدند.

برای بررسی محصولات PCR از الکتروفورز در ژل آگاروز ۱٪/۱/۵ و رنگ آمیزی DNA با رنگ اتیدیوم برماید انجام شد. ژلها با استفاده از دستگاه Gel Documentation مورد بررسی قرار گرفتند و در نهایت محصول اینتگرون کلاس ۲ از جهت وجود ژن های Int2 تعیین توالی شدند. در مواردی که نیاز به بررسی ارتباط میان الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و ژنوتیپ اینتگرون مثبت بود از تست های آماری نظیر مجذور کای استفاده شد که P.value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان داده آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

### نتایج:

از مجموع ۵۰۰ نمونه مورد بررسی، ۷۰ مورد (۱۴٪)، اسینتوباکتر شناسائی شد که از این تعداد ۵۰ مورد (۷۱/۵٪) اسینتوباکتر بومانی، ۱۲ مورد (۱۷٪) اسینتوباکتر لوفی و ۸ مورد (۱۱/۵٪) سایر گونه های اسینتوباکتر بود. در میان سویه های اسینتوباکتر بومانی، ۸۲٪، مقاومت به چند دارو داشتند. از بین آنتی بیوتیک های مورد بررسی، سفپیم و سفنازیدیم مقاوم ترین (۱۰۰٪) گزارش شده اند در حالی که آمپی سیلین - سولباکتام کمتر مقاوم بوده اند (جدول ۳). نتایج این مطالعه نشان داد که ۲۷ نمونه (۵۴٪) اسینتوباکتر بومانی نسبت به ۳ یا بیش از ۳ آنتی بیوتیک مقاوم هستند و ۱۶ نمونه (۳۲٪) به دو آنتی بیوتیک مقاومت نشان دادند. هم چنین در این مطالعه مشخص گردید که هیچ سویه ای از اسینتوباکتر بومانی مقاوم به همه آنتی بیوتیک ها نبودند و آنتی بیوتیکی وجود دارد که بروی آن موثر باشد.

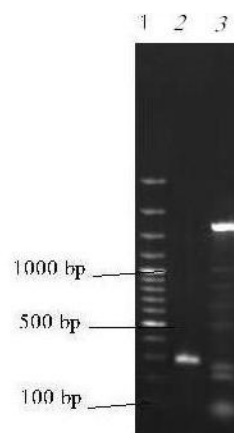
پروفایل آنتی بیوتیکی: حساسیت آنتی بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط مولر هینتون آگار با توجه به دستورالعمل های سال ۲۰۱۰ CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام شد (۱۴). لازم بذکر است از سویه استاندارد اشرشیاکلی ATCC 25922 به عنوان کنترل منفی کیفیت آنتی بیوگرام و سویه استاندارد اسینتوباکتر بومانی ATCC 19606 به عنوان کنترل مثبت کیفیت آنتی بیوگرام استفاده شد.

آنتی بیوتیک های (شرکت Himedia تهیه شده از کشور هندوستان) مورد بررسی شامل آمپی سیلین - سولباکتام (۱۰/۱۰ میکروگرم)، آزترونام (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، ایمی پنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، نوافلوکساسین (۱۰ میکروگرم)، اوفلوکساسین (۱ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، پیراسیلین - تازوباکتام (۱۰/۱۰۰ میکروگرم) و توبرامایسین (۱۰ میکروگرم) بودند. لازم بذکر است طبق مطالعات انجام گرفته، ایزوله های اسینتوباکتر بومانی که به سه یا بیش از سه رده آنتی بیوتیکی شامل کینولونها (سیپروفلوکساسین)، سفالوسپورینهای وسیع الطیف (سفنازیدیم و سفی پیم)، ترکیب بتالاکتام/مهارکننده بتالاکتاماز (آمپی سیلین/سولباکتام)، آمینوگلیکوزیدها (آمیکاسین و توبرامایسین)، و کارباپنم ها (ایمی پنم و مروپنم) مقاومت نشان دادند، به عنوان سویه های مقاوم به چند دارو (MDR) تعریف گردیدند.

آنالیز اینتگرون ها: ژنوم تمام ایزوله های اسینتوباکتر بومانی با استفاده از کیت high pure PCR template Preparation Kit (ساخت شرکت Roche کشور آلمان) استخراج شدند. واکنش PCR در حجم نهائی ۳۰ μL در نظر گرفته شد. هر نمونه شامل: 2X Master mix ۱۵ μL (ساخته کمپانی Ampliqon III کشور دانمارک) حاوی ۲۰ mM dNTP، ۱.5 mM MgCl<sub>2</sub>، ۱ μgr DNA الگو، ۲۰ pmol از هر پرایمر R و F و آب مقطر دوبار تقطیر استریل تا حجم ۳۰ μL بود. در این مطالعه همانند مطالعه کولمن برای بررسی انتشار ژن هایی که حاوی اینتگرون بودند از پرایمرهای اولیگونوکلئوتیدی 5'Cs و 3'Cs استفاده شد همچنین از پرایمر Int2F/R برای شناسایی اینتگرون کلاس ۲ استفاده گردید (۱۵) و پرایمرهای Int2F/R برای

جدول ۳: درصد مقاومت مشاهده شده در بین سویه های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران

مقاومت (درصد)	تعداد ایزوله های مقاوم اسینتوباکتر بومانی	
۱۰۰	۵۰	سفپیم
۱۰۰	۵۰	سفتازیدیم
۹۸	۴۹	آزترونام
۹۶	۴۸	نورفلوکساسین
۹۲	۴۶	اوفلوکساسین
۹۲	۴۶	سیپروفلوکساسین
۹۰	۴۵	آمیکاسین
۷۸	۳۹	ایمی پنم
۶۴	۳۲	جنتامیسین
۶۲	۳۱	آمی سیلین-سولباکتام
۴۸	۲۴	پیپراسیلین-تازوباکتام
۴۴	۲۲	مروپنم
۲۸	۱۴	توبرامایسین



شکل ۱: الکتروفورز ژل آگاروز محصول آمیلی فای شده ژن

اینتگرون با PCR. ردیف ۱ مارکر ( 100bp DNA ladder, )، ردیف ۲ از نظر اینتگرون کلاس ۲ مثبت می باشد و ردیف ۳ SM#333، ردیف ۲ از نظر اینتگرون کلاس ۲ مثبت می باشد و ردیف ۳ محصولات آمیلی فای شده ژن اینتگرون با پرایمر CS را نشان می دهد.

نتایج PCR با استفاده از ژن های IntI2 نشان داد که ۴۱/۵۰ (٪۸۲) از ایزوله ها دارای اینتگرون کلاس ۲ بودند. هم چنین نتایج این مطالعه نشان داد که اینتگرونهای با کاست های ژنی متفاوت در ۴۴/۵۰ (٪۸۸) از ایزوله ها یافت شد که دارای ۸ باند با اندازه های ۳۰۰۰، ۲۲۰۰، ۱۶۰۰، ۱۲۵۰، ۱۰۳۱، ۷۵۰، ۵۲۰، ۲۲۰ باز بودند ( شکل ۱).

در این مطالعه ارتباط وجود اینتگرون ها با حساسیت به ۱۳ آنتی بیوتیک در سویه های اسینتوباکتر بومانی مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۴ حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های اسینتوباکتر بومانی دارا و فاقد اینتگرون کلاس ۲ را نشان می دهد. با توجه به این جدول بین حضور اینتگرون کلاس ۲ و مقاومت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، اوفلوکساسین، سفپیم، سفتازیدیم، نورفلوکساسین و آمیکاسین و آزترونام ارتباط معنی داری از لحاظ آماری وجود دارد، بطوریکه سویه های دارای اینتگرون کلاس ۲ نسبت به سویه های فاقد اینتگرون مقاومت بیشتری به آنتی بیوتیک ها از خود نشان می دهند. در مورد آنتی بیوتیک ها نظیر جنتامایسین، پیپراسیلین-تازوباکتام، ایمی پنم، مروپنم، آمی سیلین-سولباکتام و توبرامایسین و حضور اینتگرون ها ارتباط معنی داری مشاهده نشد.

جدول ۴: حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های اسینتوباکتر بومانی دارا و فاقد اینتگرون کلاس ۲

Antimicrobial agents	Total n=50, R(%)	Integron negative Class II (n=9)			Integron positive Class II (n=41)			P value
		R	I	S	R	I	S	
Meropenem	22 (44)	41.3	27.5	31.2	47.6	19	33.3	Ns
Tobramycin	14 (28)	20.6	20.6	58.6	38	14.2	42.8	Ns
Ampicilin-Sulbactam	31 (62)	51.7	31	17.2	76.1	19	4	Ns
Imipenem	39 (78)	72.4	17.2	10.3	85.7	4	9	Ns
Aztronam	49 (98)	96.5	3.4	6	100	0	0	0.05
Amikacin	45 (90)	89.6	3.4	6	90.4	4	4	0.05
PipercilinTazobactam	24 (48)	41.3	34.4	24.1	57.1	33.3	9	Ns
Ceftazidim	50 (100)	100	0	0	100	0	0	0.05
Norfloracin	48 (96)	93.1	0	6.8	100	0	0	0.05
Cefepim	50 (100)	100	0	0	100	0	0	0.05
Ofloxacin	46 (92)	89.6	3.4	6.8	95.2	4.7	0	0.05
Gentamycin	32 (64)	62	0	37.9	66.6	0	33.3	Ns
Ciprofloxacin	46 (92)	86.2	0	13.7	100	0	0	0.05

## بحث:

امروزه گسترش ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی از طریق ساختارهای اینتگرونی با ایجاد مقاومت های آنتی بیوتیکی چندگانه، به مشکل مهمی در درمان عفونت های حاصل از اسینتوباکترها تبدیل شده اند (۹،۱۰).

یافته های این مطالعه همانند مطالعات بایوگا و یوشی نشان داد که مقاومت آنتی بیوتیکی بدلیل مصرف بی رویه داروها در سویه های اسینتوباکتر بومانی به صورت جدی در حال افزایش است، بطوریکه ۸۲٪ از ایزوله های اسینتوباکتر بومانی مورد بررسی در این مطالعه، فتوتیپ مقاومت به چند دارو (MDR) را دارا بودند. آنان در مطالعات خود میزان جداسازی سویه های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو را حدود ۴۵٪ تا ۷۵٪ گزارش کردند (۱۶،۱۷).

در مطالعه حاضر بیشترین الگوی مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های سفپیم، سفنازیدیم، آزترونام، نورفلوکساسین، اوفلوکساسین، سیپروفلوکساسین و آمیکاسین مشاهده شد و توبرامایسین، مروپنم و پیراسیلین - تازوباکتام موثرترین آنتی بیوتیک ها بر علیه سویه های اسینتوباکتر بومانی بودند که با نتایج مطالعه آیان و همکارانش در مورد آنتی بیوتیک های سفپیم، سفنازیدیم و آزترونام و آمپی سیلین - سولباکتام (۱۸) و نتایج مطالعه وانگ و همکارانش در مورد آنتی بیوتیک های آزترونام، سفنازیدیم، سفپیم و سیپروفلوکساسین (۱۹) و نیز با مطالعات رهبر و همکارانش که طی سال های ۲۰۰۵ تا ۲۰۰۶ در ایران انجام شد در مورد آنتی بیوتیک های سفنازیدیم، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین تا حد زیادی مطابقت دارد (۲۰).

در مطالعه حاضر، همانند مطالعات کولمن (۱۵)، گونزالس (۲۱)، پلوی (۲۲) و همکارانشان از دو نوع PCR متفاوت برای جداسازی اینتگرون ها با کاست های ژنی اینتگره شده در آن (با استفاده از پرایمرهای 5'Cs و 3'Cs) و جداسازی اینتگرون کلاس ۲ با استفاده از ژن IntI2 استفاده گردید. این مطالعات نشان دادند که PCR ژنهای اینتگراز دارای قدرت جداسازی و حساسیت بیشتری نسبت به PCR اینتگرون در جداسازی اینتگرون های کلاس مختلف در سویه های اسینتوباکتر بومانی می باشند.

در مطالعات مختلف در سراسر دنیا میزان شیوع اینتگرون ها در سویه های اسینتوباکتر بومانی، با استفاده

از پرایمر CS بسیار متغیر بوده و از ۵٪ تا ۸۰٪ را شامل می شوند. در مطالعه حاضر با استفاده از این پرایمرها، ۸۸٪ از نمونه ها حاوی اینتگرون با اندازه بین ۲۸۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز بودند که با نتایج مطالعات رویز (۲۳)، ریبرا (۲۴) و کولمن (۱۵) که میزان جداسازی اینتگرون با اندازه های مختلف کمتر از ۳۰۰۰ جفت باز بین ۲۷/۵٪-۴۴٪ بیان نمودند، متفاوت می باشد. با توجه به اینکه پرایمرهای بکار رفته در این مطالعه با مطالعات فوق یکسان بود، لذا این تفاوت می تواند ناشی از انتشار بسیار زیاد این نوع اینتگرون ها با کاست های ژنی مختلف در سویه های اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از نمونه های بالینی باشد.

در مطالعه حاضر، همانند مطالعه گونزالس و همکارانش و برخلاف مطالعه کولمن و همکارانش میزان جداسازی اینتگرون کلاس ۲ بالا بود. در این مطالعه ۸۴٪ از سویه های اسینتوباکتر بومانی دارای اینتگرون کلاس ۲ بودند که بالاتر از گزارشات محققین دیگر از سراسر دنیا می باشد که میزان جداسازی اینتگرون کلاس ۲ را بین ۰-۵۲/۶٪ گزارش نموده اند. این تفاوتها می تواند ناشی از روشهای بررسی باشد (۲۹-۲۵).

همانند مطالعه کولمن و همکارانش این مطالعه نشان داد که در سویه های حاوی اینتگرون کلاس ۲ به نسبت سویه های فاقد اینتگرون مقاومت چند دارویی بالاتر می باشد که این می تواند به این دلیل باشد که کاستهای ژنی مقاوم به آنتی بیوتیک می توانند مقاومت به چندین آنتی بیوتیک را کد نمایند. در بررسی حاضر میان حضور اینتگرون ها و مقاومت به سیپروفلوکساسین، اوفلوکساسین، سفپیم، سفنازیدیم، آزترونام، آمیکاسین و نورفلوکساسین از لحاظ آماری ارتباط معنی داری مشاهده شد بطوریکه سویه های حاوی اینتگرون ها به این آنتی بیوتیک ها مقاومت بیشتری نشان دادند که این نتیجه مشابه نتایج مطالعه لین و همکارانش (۱۱) می باشد که گزارش نمودند میان حضور اینتگرون ها و مقاومت به سفپیم، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین ارتباط معنی داری وجود دارد. همچنین در مطالعه ای که توسط کولمن انجام شد ارتباط معنی داری بین حضور اینتگرون های کلاس ۲ و مقاومت به آمیکاسین، سیپروفلوکساسین و سفنازیدیم مشاهده شد و همچنین ارتباط بین حضور اینتگرون ها و مقاومت به ایمی پنم و مروپنم از لحاظ آماری قابل توجیه

**منابع:**

1. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis* 2008; 46(8): 1254-63.
2. Nemec A. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Klin Mikrobiol Infekc Lek* 2008; 14(5):162-7.
3. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis* 2006; 42:692-99.
4. Bassetti M, Righi E, Esposito S, Petrosillo N, Nicolini L. Drug treatment for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Future Microbiol* 2008 ; 3(6):649-60.
5. Michalopoulos A, Falagas ME. Treatment of *Acinetobacter* infections. *Expert Opin Pharmacother* 2010; 11(5):779-88.
6. Karageorgopoulos DE, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Lancet Infect Dis*. 2008; 8(12):751-62.
7. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5(12):939-51.
8. Neonakis IK, Spandidos DA, Petinaki E. Confronting multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a review. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37(2):102-9.
9. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R. Multiresistant *Acinetobacter baumannii* infections: epidemiology and management. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23(4):332-9.
10. Cambray G, Guerout AM, Mazel D. Integrins. *Annu Rev Genet* 2010; 44:141-66.
11. Lin MF, Chang KC, Yang CY, Yang CM, Xiao CC, Kuo HY, et al. Role of integrins in antimicrobial susceptibility patterns of *Acinetobacter baumannii*. *Jpn J Infect Dis* 2010;63(6):440-3.
12. Gaur A, Prakash P, Anupurba S, Mohapatra TM. Possible role of integrase gene polymerase chain reaction as an epidemiological marker: study of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from nosocomial infections. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29(4):446-50.
13. Labbate M, Case RJ, Stokes HW. The integron/gene cassette system: an active player in bacterial adaptation. *Methods Mol Biol* 2009; 532: 103-25.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; 20th informational supplement. CLSI/NCCLS M100-S20. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa
15. Koeleman JG, Stoof J, Van Der Bijl MW, Vandembroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Identification of epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* by integrase gene PCR. *J Clin*

نمود که با مطالعه حاضر کاملاً مطابقت دارد. نتایج بدست آمده از مطالعه گایور و همکارانش نیز در مورد وجود ارتباط میان حضور اینتگرون های کلاس ۲ و مقاومت به آمیکاسین، سفتازیدیم و سیپروفلوکساسین نیز (۱۲) با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مواردیکه ارتباط معنی داری میان حضور اینتگرون های کلاس ۲ و مقاومت آنتی بیوتیکی مشاهده نمی شود مقاومت حاصل می تواند از راههای مختلف از جمله نقص در آنزیم های اتولیتیک در دیواره سلولی و یا تحت کنترل پلاسمید و یا مقاومت تحت کنترل کروموزوم بدست آمده باشد (۳،۱۵).

**نتیجه نهایی:**

بطور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کلاس ۲ اینتگرون ها در بین سویه های اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از بیمارستانهای تهران بطور وسیعی منتشر می باشند و وجود این اینتگرون ها نقش مهمی در اکتساب مقاومت به چند دارو در این سویه ها دارند. بیشترین مقاومت در سویه های حاوی اینتگرون کلاس ۲، مربوط به آمینوگلیکوزیدها، سفالوسپورین ها، کینولون ها و مونوباکتام بود و در مورد سایر آنتی بیوتیک ها ممکن است مکانیسم های مقاومتی دیگری دخیل باشند. در این مطالعه صرف نظر از اینکه ژنهای مقاومت در اینتگرون ها وجود دارند یا خیر، ارتباط قوی میان وجود اینتگرون ها و کاهش حساسیت به بسیاری از گروه های آنتی بیوتیکی مشاهده شد و این می تواند نگران کننده باشد چراکه این ساختارها می توانند باعث حاججائی ژن های دخیل در مقاومت در بین سویه ها شده و آنها به آنتی بیوتیک های جدید مقاوم شوند. بنابراین مونتورینگ مقاومت دارویی ناشی از اینتگرون ها به خصوص کلاس ۲ با استفاده از PCR ژنهای اینتگراز، در پروتکل های کنترل عفونت ناشی از سویه های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو در بیمارستانهای مختلف ایران دارای اهمیت می باشد. هرچند که بایستی در این زمینه در بخش های مختلف این کشور مطالعات بیشتری انجام گیرد.

**سپاسگزاری:**

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردید، لذا از معاونت پژوهش و کارکنان آزمایشگاه بیمارستان های امام خمینی، بقیه ا... (عج) و بیمارستان میلاد جهت همکاری در انجام این تحقیق نهایت سپاسگزاری را داریم.

- Microbiol 2001 ;39(1):8-13.
16. Bayuga S, Zeana C, Sahni J, Della-latta P, el-Sadr W, Larson E. Prevalence and antimicrobial patterns of *Acinetobacter baumannii* on hands and nares of hospital personnel and patients: the iceberg phenomena again. *Heart Lung* 2002; 31(5): 382-90.
  17. Joshi SG, Litake GM, Niphadkar KB, Ghole VS. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a teaching hospital. *J Infect Chemother* 2003; 9(2): 187-90.
  18. Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a teaching hospital. *J Hosp Infect* 2003;54: 39-45
  19. Wang SH, Sheng WH, Chang YY, Wang LH, Lin HC, Chen ML, et al. Healthcare- associated outbreak due to pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in a surgical intensive care unit. *J Hosp Infect* 2003 ; 53(2):97-102.
  20. Rahbar M, Mehrgan H, Aliakbari NH. Prevalence of antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* in a 1000-bed tertiary care hospital in Tehran, Iran. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53: 290-3.
  21. Gonzalez, G, Sossa K, Bello H, Dominguez M, Mella S, Zemel-man R. Presence of integrons in isolates of different biotypes of *Acinetobacter baumannii* from Chilean hospitals. *FEMS Microbiol Lett* 1998; 161:125–128.
  22. Ploy MC, Denis F, Courvalin P, Lambert T. Molecular Characterization of Integrons in *Acinetobacter baumannii*, description of a hybrid class 2 integron. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 ; 44(10):2684-8.
  23. Ruiz J, Navia MM, Casals C, Sierra JM, Jiménez De Anta MT, Vila J. Integron-mediated antibiotic multiresistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Spain. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9(9):907-11.
  24. Ribera A, Vila J, Fernández-Cuenca F, Martínez-Martínez L, Pascual A, Beceiro A, et al. Type 1 integrons in epidemiologically unrelated *Acinetobacter baumannii* isolates collected at Spanish hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(1):364-5.
  25. Ramírez MS, Stietz MS, Vilacoba E, Jeric P, Limansky AS, Catalano M, et al. Increasing frequency of class 1 and 2 integrons in multidrug-resistant clones of *Acinetobacter baumannii* reveals the need for continuous molecular surveillance. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37(2):175-7.
  26. D'Arezzo S, Capone A, Petrosillo N, Visca P, Ballardini M, Bartolini S, et al. Epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* related to European clonal types I and II in Rome (Italy). *Clin Microbiol Infect* 2009; 15(4):347-57.
  27. Koo SH, Kwon KC, Cho HH, Sung JY. Genetic basis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from three university hospitals in Chungcheong Province, Korea. *Korean J Lab Med* 2010; 30(5):498-506.
  28. Kansakar P, Dorji D, Chongtrakool P, Mingmongkolchai S, Mokmake B, Dubbs P. Local dissemination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clones in a Thai hospital. *Microb Drug Resist* 2011; 17(1):109-19.
  29. Turton JF, Kaufmann ME, Glover J, Coelho JM, Warner M, Pike R, et al. Detection and typing of integrons in epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* found in the United Kingdom. *J Clin Microbiol* 2005; 43(7):3074-82.