

A Phenotypic and Genotypic Study of Colistin *arn* Resistance Regulator Gene Classes in *Acinetobacter Baumannii* isolated from Clinical Cases using Multiplex PCR

Farnoosh Karimi

M.Sc. Student of Molecular Biology, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Saveh Branch, Saveh, Iran, Farnooshkarimi95@yahoo.com

Kumarss Amini*

Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran, dr_kumarss_amini@yahoo.com

Gholamreza Javadi

Assistant Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran, alaleleila@gmail.com

Abstract

Introduction: Colistin is considered as the last line of treatment in nosocomial infections caused by *Acinetobacter baumannii*. Nowadays, with the elucidation of resistance transition mechanisms through *arn* genes, a new drug resistance pattern has been observed in *Acinetobacter baumannii* isolates. The aim of this study was to investigate the phenotypic and genotypic roles of the genes for regulating resistance to Colistin (*arn*) in strains isolated from clinical cases.

Materials and methods: To conduct this descriptive study, after obtaining the written consent, 400 clinical samples were collected from patients admitted to Hazrat-e-Rasoul Hospital in Tehran. After the identification of the isolates using biochemical methods and *16srDNA* analysis, the antibiotic resistance pattern of the isolates was determined by disk diffusion and molecular methods (to detect *arnT*, *arnB* genes).

Results: Sixty *Acinetobacter baumannii* strains were isolated from 400 samples. The results of antibiotic resistance analysis showed that, in most cases, more than 38% of blood samples had *Acinetobacter* species. Also, no *Acinetobacter* was found in any of the spinal cord specimens, which showed the lowest infection rate ($p < 0.05$). There was also a significant difference between the antibiotic susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolates to Colistin and other antibiotics ($p < 0.05$). In addition, Colistin resistant strains had *arnB* and *arnT* genes, which were considered statistically significant ($p < 0.05$) compared to other strains.

Discussion and conclusion: Since Colistin is used as the last line of treatment, increased resistance to it can lead to increased mortality and hospital costs. Therefore, the application of new therapeutic regimens and greater sensitivity to the timely diagnosis and control of nosocomial infections seems necessary.

Key words: Colistin, *Acinetobacter*, Resistance, *Arn* Gene

* Corresponding author

Received: December 25, 2019 / **Accepted:** April 25, 2020

فصل نامه زیست شناسی میکروارگانیسم ها
معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان
سال نهم، شماره ۳۴، تابستان ۱۳۹۹، صص ۱۳-۲۱
نوع مقاله: پژوهشی
تاریخ وصول: ۱۳۹۸/۱۰/۴، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۶

Doi: [10.22108/BJM.2020.120342.1248](https://doi.org/10.22108/BJM.2020.120342.1248)

مطالعه فنوتیپی و ژنوتیپی کلاس های ژن تنظیم گر مقاومت به کولیستین (*arn*) در *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده از موارد بالینی به روش PCR چندگانه

فروش کریمی: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران،
Farnooshkarimi95@yahoo.com

کیومرث امینی*: دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران،
dr_kumarss_amini@yahoo.com
غلامرضا جوادی: استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران،
alaleleila@gmail.com

چکیده

مقدمه: کولیستین آخرین خط درمان در عفونت های بیمارستانی ناشی از *اسیتوباکتر بومانی* به شمار می آید. امروزه با روشن شدن سازوکار انتقال مقاومت از طریق ژن های *arn*، بروز الگوی مقاومت دارویی جدید در جدایه های *اسیتوباکتر بومانی* مشاهده شده است. در مطالعه حاضر سعی شد به بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی کلاس های ژن تنظیم گر مقاومت به کولیستین (*arn*) در گونه های جدا شده از موارد بالینی پرداخته شود.

مواد و روش ها: به منظور انجام این مطالعه توصیفی، پس از دریافت رضایت کتبی، تعداد ۴۰۰ نمونه بالینی از بیماران بستری در بیمارستان حضرت رسول تهران جمع آوری شد. پس از شناسایی جدایه ها با استفاده از روش های بیوشیمیایی و بررسی *16S rDNA*، الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها به دو روش انتشار دیسک و روش مولکولی (برای ردیابی ژن های *arnB* و *arnT*) تعیین شد.

نتایج: تعداد ۶۰ سویه *اسیتوباکتر بومانی* از ۴۰۰ نمونه گرفته شده جدا شد. مطابق نتایج بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، در بیشترین حالت، بیش از ۳۸ درصد نمونه های خون دارای گونه *اسیتوباکتر بومانی* بودند و در هیچ نمونه مغزی نخاعی، *اسیتوباکتر بومانی* یافت نشد و کمترین نسبت آلودگی را نشان داد ($P < 0.05$)؛ همچنین اختلاف آماری معناداری بین حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه های *اسیتوباکتر بومانی* به کولیستین و سایر آنتی بیوتیک ها مشاهده شد ($P < 0.05$)؛ علاوه بر این، سویه های مقاوم به کولیستین دارای ژن های *arnB* و *arnT* بودند که در مقایسه با سایر سویه ها از نظر آماری معنادار بود ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری: باتوجه به اینکه کولیستین آخرین خط درمان است، افزایش مقاومت به آن می تواند به افزایش مرگ و میر و هزینه های بیمارستانی منجر شود؛ از این رو، به کارگیری رژیم های درمانی جدید و حساسیت بیشتر در تشخیص به موقع و کنترل عفونت های بیمارستانی امری ضروری به نظر می رسد.

واژه های کلیدی: کولیستین، *اسیتوباکتر*، مقاومت، *arn*

* نویسنده مسئول مکاتبات

Copyright©2020, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

Doi: 10.22108/bjm.2020.120342.1248

امروزه علاوه بر فساد مواد غذایی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اسیتوباکتر بومانی* مقاوم به چند دارو (MDR) از مهم‌ترین عوامل عفونت بیمارستانی به شمار می‌آید. مطالعه‌ها نشان می‌دهند مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این سویه‌ها به واسطهٔ سازوکارهای اکتسابی و ذاتی همچون تغییر آنزیمی، جهش در ژن‌های هدف، تغییر نفوذپذیری غشای خارجی، افزایش بیان افلاکس پمپ‌ها و انتقال ژن‌های مقاومت دارویی منتقل‌شونده با عناصر ژنتیکی متحرک (مانند ترانسپوزون‌ها) رخ می‌دهد (۱)؛ در این بین، کولستین از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های ضد *اسیتوباکتر* است که امروزه، مقاومت علیه آن مدنظر قرار گرفته است. این دارو، نوعی آنتی‌بیوتیک از دستهٔ پلی‌میکسین است که غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی را تخریب می‌کند و دارای آثار وابسته به غلظت باکتری‌کش بر *اسیتوباکتر بومانی* است. اگرچه مطالعه‌های اخیر مقاومت *اسیتوباکتر بومانی* نسبت به پلی‌میکسین‌ها را در شرایط بالینی و آزمایشگاهی نشان می‌دهند، سازوکارهای این مقاومت هنوز ناشناخته است. دستهٔ ژنی *arnBCADTEF* پروتئینی را تولید می‌کند که نقش اساسی در تنظیم مقاومت به کولستین دارد (۴ و ۵).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مقاوم به چند کلاس مختلف آنتی‌بیوتیکی همچون بتالاکتام‌ها، آمینوگلوکوزیدها و فلئوئوروکینولون‌ها سبب افزایش طول مدت بستری و هزینه‌های درمانی و نهایتاً افزایش میزان مرگ‌ومیر افراد می‌شود. درمان عفونت‌های ناشی از این عامل بیماری‌زا به علت مقاومت درخور توجه آن به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار دشوار است و میزان مرگ‌ومیر بیماران آلوده را به ۴۳ درصد و در

مقدمه

اسیتوباکتر بومانی (*Acinetobacter baumannii*)، باکتری بیماری‌زای فرصت‌طلب و از جمله باکتری‌های گرم منفی، هوازی و غیرتخمیری است که به شکل کوکسی یا کوکوباسیل دیده می‌شود. از آنجاکه این گونهٔ باکتریایی نیازمندی‌های غذایی اندکی برای رشد دارد، می‌تواند به مدت طولانی در شرایط نامساعد، سطوح خشک و همچنین محیط آبی زنده بماند (۱). *اسیتوباکتر* در بسیاری منابع از جمله شیر پاستوریزه‌شده، غذاهای یخ‌زده، هوای بیمارستان، لباس شسته‌شده، لارنگوسکوپ، کاتتر آنژیوگرافی، ونتیلاتورها، بالشت‌های بیمارستانی و صابون‌ها مشاهده شده است و مقاومت آن به برخی شوینده‌های شیمیایی همچون کلرهگزیدین سبب شده است از علل مهم عفونت‌های بیمارستانی به شمار آید. تعدادی از گونه‌های *اسیتوباکتر* مستقیماً در عفونت‌های انسانی دخالت دارند که مهم‌ترین آنها، *اسیتوباکتر بومانی* است (۲). مطالعه‌های همه‌گیرشناسی (Epidemiology) اثبات کرده‌اند این باکتری به ندرت سبب بروز عفونت‌های سخت در افراد دارای سطح ایمنی طبیعی می‌شود، اما در گروه‌های مختلف مستعد عفونت‌های فرصت‌طلب همچون افراد بستری در بخش مراقبت‌های ویژهٔ بیمارستان، افراد دارای نقص ایمنی یا سوختگی وسیع و سالمندان سبب ایجاد عفونت‌های مجاری ادراری، مننژیت، اندوکاردیت، پریتونیت، عفونت‌های زخم و عفونت پوست می‌شود (۳).

برخی کشورهای جهان سوم به ۷۵ درصد می‌رساند (۶ و ۷).

مطالعه‌ها روی سطوح و الگوهای مختلف حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مختلف *اسیتوباکتر بومانی* در مناطق مختلف جهان و ایران نشان می‌دهند سویه‌های *اسیتوباکتر بومانی* در مقایسه با سایر گونه‌های *اسیتوباکتر*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیشتری دارند. با وجود نمونه‌های پراکنده عفونت *اسیتوباکتر*، شیوع عفونت بیمارستانی ناشی از سویه‌های *اسیتوباکتر بومانی* به‌طور گسترده در مقاله‌های همه‌گیرشناسی (Epidemiology) گزارش و به نگرانی فزاینده‌ای در بیمارستان‌ها تبدیل شده است (۵). سیستم‌های طبقه‌بندی متعددی برای تعیین منشأ عفونت و روش گسترش گونه‌ها توسعه یافته‌اند که از طبقه‌بندی فنوتیپی اولیه (طبقه‌بندی بر اساس یافته‌های سرم‌شناسی و طبقه‌بندی باکتریوسین) تا روش‌های مولکولی معتبرتر مانند طبقه‌بندی ریوزومی، تحلیل چندریختی‌های طول محدودیت در DNA کروموزومی از طریق PFGE تعیین اثر PNR، ARDRA، تحلیل DNA چندریختی تکثیرشده تصادفی AFLP، PCR، منطقه محدودیت کمیاب (IRS-PCR) و PCR مبتنی بر توالی مقارن برون زاد تکراری (REP-PCR) را شامل می‌شوند. اگرچه تمام روش‌های یادشده درصدهایی از تمایز را میان جدایه‌های بالینی نشان می‌دهند، در حال حاضر هیچ روش استاندارد توافق‌شده‌ای برای دسته‌بندی *اسیتوباکتر بومانی* بر اساس الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی وجود ندارد (۸ و ۹).

از آنجا که شناسایی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در هر منطقه از مهم‌ترین عوامل جلوگیری از گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی است، مطالعه حاضر می‌کوشد به بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی تعیین میزان شیوع مقاومت

آنتی‌بیوتیکی و توزیع ژن تنظیم‌گر مقاوم به کولیستین (*arn*) در باکتری *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده از نمونه‌های بالینی (خون، ترشحات تنفسی، ادرار، زخم پوست) به روش Multiplex PCR و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار دیسک پردازد.

مواد و روش‌ها

جمعیت مطالعه و جداسازی باکتری: به‌منظور انجام این مطالعه توصیفی-مقطعی، تعداد ۴۰۰ نمونه بالینی شامل خون (۱۴۰ نمونه)، ترشحات تنفسی (۱۲۲ نمونه)، ادرار (۵۹ نمونه)، مایع مغزی‌نخاعی (۴۰ نمونه)، خلط (۲۰ نمونه) و زخم (۱۹ نمونه) طی مدت سه ماه (مهر تا دی ۹۷) از بیماران بستری در بیمارستان حضرت رسول (تهران) جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی تحقیقاتی پاسارگاد منتقل شد. بیمارانی شرایط مطالعه را داشتند که رضایت‌نامه کتبی را به‌منظور موافقت با انجام مطالعه روی نمونه امضا کرده بودند و در پرونده آنها تأیید شده بود که عفونت بیمارستانی دارند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس رنگ‌آمیزی گرم شدند تا وجود کوکوباسیل‌های گرم منفی *اسیتوباکتر* تأیید شود. به‌منظور شناسایی گونه‌های مختلف *اسیتوباکتر*، آزمون‌های بیوشیمیایی IMVIC، اوره‌آز، SIM، MRVP، OF، TSI، کاتالاز و اکسیداز و رشد در ۳۷ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد انجام شدند. گونه‌هایی که نتایج آزمون‌های کاتالاز، سیترات و اوره‌آز آنها مثبت و لاکتوز، اکسیداز، اندول، H₂S، MRVP آنها منفی و بدون حرکت بودند، *اسیتوباکتر بومانی* در نظر گرفته شدند و در محیط پپتون‌واتر (۳۰ درصد گلیسرول) و دمای منفی ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تأیید قطعی گونه‌ها با ردیابی قطعه ژنی *16S rDNA* طبق

آزمون Multiplex PCR با مقادیر ۱۰ میکرولیتر PCR Master Mix 2x (Amplicon)، ۰/۸ میکرولیتر از هر آغازگر (جدول ۲) با غلظت ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر و ۴ میکرولیتر از DNA الگو (۱۵۰ نانوگرم) برای هر واکنش در مراحل دمایی شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال آغازگر در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و پس از ۳۵ چرخه، مرحله تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد.

جدول ۱- دیسک‌های استفاده‌شده برای آزمون آنتی‌بیوگرام و تفسیر قطر هاله رشد نکردن بر اساس میلی‌متر

مقاوم	حدواسط	حساس	آنتی‌بیوتیک/غلظت بر اساس میکروگرم
۱۰	-	۱۱	کولیستین ۱۰
≤۱۳	۱۴-۲۰	≥۲۱	سفترایکسون ۳۰
≤۱۵	۱۶-۲۰	≥۲۱	سیپروفلوکساسین ۳۰
≤۱۷	۱۸-۲۰	≥۲۱	پیپراسیلین ۱۰۰
≤۱۴	۱۵-۱۶	≥۱۷	آمیکاسین ۳۰
≤۱۱	۱۲-۱۴	≥۱۵	آمپی‌سیلین ۱۰
≤۱۴	۱۵-۲۲	≥۲۳	سفتواکسیم ۳۰
≤۱۴	۱۷-۱۵	≥۱۸	سفتازیدیم ۳۰
≤۱۲	۱۳-۱۴	≥۱۵	توبرامایسین ۱۰
≤۱۷	۱۸-۲۰	≥۲۱	مروپنم ۱۰
≤۱۳	۱۴-۱۵	≥۱۶	ایمی‌پنم ۱۰

روش یادشده در مطالعه قبلی (۱۰) و طی واکنش PCR انجام شد.

آزمون تعیین حساسیت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها: مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (شرکت پادتن طب، ایران) بر اساس CLSI (۲۰۱۸) (۱۱) و به روش انتشار دیسک در محیط مولر هینتون آگار ارزیابی شد. گفتنی است از سویه استاندارد/سینتوباکتر بومانی ATCC 23155 برای شاهد مثبت و از سویه استاندارد/شریشیا کلی ATCC 12475 برای شاهد منفی کیفیت آنتی‌بیوگرام استفاده شد. آنتی‌بیوتیک‌های آزمون‌شده در جدول ۱ دیده می‌شوند. سوسپانسیون باکتری با کدورت معادل ۰/۵ مک‌فارلند روی محیط مولر هینتون آگار تلقیح شد؛ پس از گذاشتن دیسک‌ها در محیط کشت و ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نتایج بررسی قطر هاله رشد نکردن با جدول CLSI تفسیر شدند.

مراحل مولکولی: در مطالعه حاضر، جداسازی DNA با استفاده از کیت اختصاصی جداسازی DNA (سیناژن، ایران) و با توجه به دستورعمل سازنده انجام شد؛ سپس به منظور بررسی کمی و کیفی DNA جداشده، روش‌های اسپکتروفتومتری با نانودراپ و الکتروفورز در ژل انجام شدند و کمیت و کیفیت مناسب ژنوم جداشده در تمام نمونه‌ها تأیید شد. آغازگرهای استفاده‌شده (ماکروژن، ایران) برای ردیابی ژن‌های *arnB* و *arnT* در جدول ۲ دیده می‌شوند که با نرم‌افزار Gene runner طراحی و در سایت NCBI بلاست شدند.

جدول ۲- آغازگرهای استفاده‌شده در مطالعه حاضر

ژن هدف	اندازه محصول	توالی آغازگر
<i>arnT</i>	۱۴۷ جفت باز	F=5'- ATAATCGGCGACAGGATAGC -3' R=5'- CAGTATCGGTCAGTGGCTGT-3'

<i>arnB</i>	۱۰۴۰ جفت باز	F=5'- CTAGGAATTCCACGCCAAGGACGCCAAC -3' R=5'- CTAGGGATCCCCGGGAGAATGGCAGAAAGTC -3'
<i>16S rDNA</i>	۲۰۰ جفت باز	F=5' CATTATCACGGTAATTAGTG-3' R=5'- AGAGCACTGTGCACTTAAG-3'

نتایج

در مطالعه حاضر، ۶۰ سویه استینوباکتر بومانی از ۴۰۰ نمونه گرفته شده از بیماران بستری در بیمارستان به دست آمد. مطابق داده‌ها در بیشترین حالت، بیش از ۳۸ درصد نمونه‌های خون دارای گونه استینوباکتر بومانی بودند و استینوباکتر بومانی در هیچ نمونه مغزی نخاعی یافت نشد و کمترین نسبت آلودگی را نشان داد ($P < 0.05$). در مرحله بعد، تمام سویه‌های استینوباکتر بومانی جدا شده برای تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در حضور آنتی‌بیوتیک‌های هدف مطالعه حاضر به روش انتشار دیسک بررسی شدند (جدول ۳). نتایج آماری نشان دادند اختلاف آماری معناداری بین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های استینوباکتر بومانی به کولیستین و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد ($P < 0.05$).

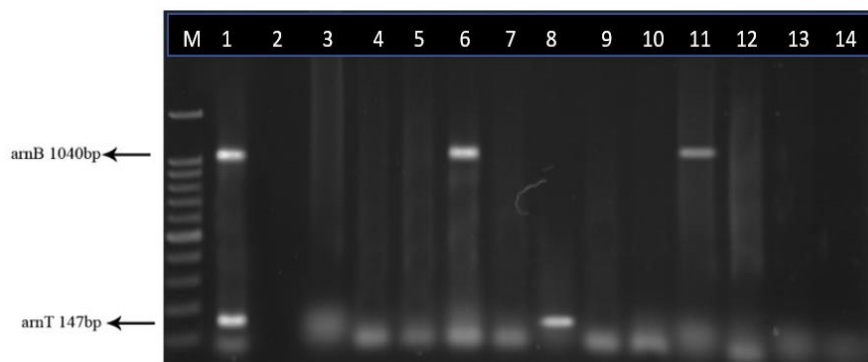
به منظور تکثیر قطعه‌های ژنی مطالعه شده از دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) و برای ردیابی قطعه ژنی تکثیر یافته در PCR از الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز استفاده شد. در این مرحله، ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR مربوط به هر مرحله از آزمایش در حضور نشانگر ۱۰۰ جفت بازی DNA (سیناژن، ایران) به مدت حدود ۳۲ دقیقه روی ژل آگارز ۱/۵ درصد دارای اتیدیوم بروماید در ولتاژ ثابت ۷۶ ولت الکتروفورز شد و سپس ژل به دست آمده با دستگاه ژل داگ مشاهده و از آن عکس برداری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل با نرم افزار آماری SPSS، نسخه ۲۱ و مدل‌های آماری مجذور کای و دقیق فیشر در سطح اطمینان ۹۵ درصد تحلیل شدند.

جدول ۳- نتایج آنتی‌بیوگرام سویه‌های استینوباکتر بومانی

ماده ضد میکروبی	تعداد و درصد سویه‌ها بر اساس تفسیر CLSI					
	Sensitive		Intermediate		Resistance	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
کولیستین	۵۸	۹۶	۰	۰	۲	۳/۳
سفتراکسون	۷	۱۱/۶	۰	۰	۵۲	۸۶
سیپروفلوکساسین	۱۱	۱۸/۳	۰	۰	۴۸	۸۰
پیپراسیلین	۷	۱۱/۶	۲	۳/۳	۵۰	۸۳/۳
آمیکاسین	۳	۵	۱	۱/۶	۵۵	۹۱/۶
آمپی‌سیلین	۵۵	۹۱/۶	۳	۵	۲	۳/۳
سفوتاکسیم	۱۰	۱۶/۶	۰	۰	۵۰	۸۳/۳
سفتازیدیم	۴	۶/۶۶	۰	۰	۵۶	۹۳/۳
سفی‌کسیم	۶	۱۰	۰	۰	۵۴	۹۰
مروپنم	۷	۱۱/۶	۲	۳/۳	۵۰	۸۳/۳
ایمی‌پنم	۰	۰	۷	۱۱/۶	۵۲	۸۶

بررسی آماری نشان داد سویه‌های مقاوم به کولیستین دارای ژن‌های *arnB* و *arnT* هستند که از نظر آماری در مقایسه با سایر سویه‌ها معنادار تلقی می‌شود ($P < 0.05$) (شکل ۱).



شکل ۱- نتیجه آزمایش Multiplex-PCR روی تعدادی از جدایه‌ها که به ترتیب از چپ به راست عبارتند از: M. نشانگر DNA ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱. شاهد مثبت، ستون ۲. شاهد منفی، ستون‌های ۳ تا ۱۴. محصولات PCR نمونه‌ها

دارند، اما حساسیت آنها به طور معناداری نسبت به کولیستین بیشتر از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها است. مطالعه‌های بسیاری به بررسی سطح حساسیت و مقاومت *استینوباکتر بومانی* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج همچون مروپنم، کلرامفنیکل و نیتروفورانتوئین در ایران و جهان پرداخته‌اند و نتایج تقریباً یکسانی را به دست آورده‌اند (۱۳). برخی مطالعه‌ها نیز آنتی‌بیوتیک‌های مشابه با مطالعه حاضر را بررسی کرده‌اند. در مطالعه Ayan و همکاران، ۵۲ سویه مطالعه شدند (۱۴) و تمام جدایه‌ها به پیراسیلین، سیروفلوکساسین و سفتریاکسون مقاوم بودند و حساسیت نسبت به آمیکاسین در ۷۴ درصد جدایه‌ها مشاهده شد. در مطالعه حاضر، مقاومت به پیراسیلین، سیروفلوکساسین و سفتریاکسون بیش از ۸۰ درصد بود، اما مقاومت به آمیکاسین در ۹۱ درصد نمونه‌ها مشاهده شد؛ تفاوت در حساسیت نسبت به آمیکاسین را می‌توان به تفاوت جغرافیایی نسبت داد. Yun و همکاران طی

بحث

گسترش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و عفونت‌های بیمارستانی از مهم‌ترین مشکلاتی است که ساختارهای بهداشتی در جهان را درگیر کرده است و پیش‌بینی می‌شود به مشکل اول سازمان بهداشت جهانی طی سال‌های آینده تبدیل شود. *استینوباکتر بومانی*، باکتری مقاوم در برابر شرایط سخت محیطی و بیماری‌زای فرصت‌طلبی است که از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌آید (۱۲) و گسترش ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه، مشکل مهمی در درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری است (۲). در مطالعه حاضر با تعیین میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی، توزیع ژن تنظیم‌گر مقاوم به کولیستین (*arn*) در باکتری *استینوباکتر بومانی* جدایشده از نمونه‌های بالینی بررسی شد. نتایج نشان دادند جدایه‌های بررسی‌شده مقاومت چندگانه به آنتی‌بیوتیک‌های اختصاصی این مطالعه

و حضور توالی نوکلئوتیدی در جدایه‌ها بررسی و مشاهده شد اختلافی بین آنها وجود ندارد. مطالعه دانشمندان روی جمعیت ایرانی نشان داده است بیشتر جدایه‌های *اسیتوباکتر* به سفالوسپورین‌های نسل سوم، تیکارسیلین - آزترونام و تیکارسیلین - کلانولانیک‌اسید مقاوم و به کولیستین حساس هستند و مطالعه حاضر در تأیید مطالعه‌های پیشین در این زمینه است (۱۲ و ۲۰-۲۲). گفتنی است باوجود حساسیت باکتری‌ها به کولیستین (آخرین خط درمان)، مقادیری از مقاومت در این گونه‌ها مشاهده می‌شود؛ علاوه‌براین، ژن‌های مقاومت چندگانه می‌توانند روی ژن‌های حدت *arn* قرار گیرند و برای نمونه، از باکتری‌های روده‌ای به سویه‌های دیگر همچون *اسیتوباکتر بومانی* منتقل شوند.

نتیجه‌گیری

از آنجا که کولیستین در آخرین خط درمان استفاده می‌شود، افزایش مقاومت به آن زنگ خطر برای سیستم‌های بهداشتی به‌ویژه در رده دამپزشکی است. با توجه به مصرف این دارو در دامپزشکی، به نظر می‌رسد انتقال مقاومت از باکتری‌های روده‌ای به *اسیتوباکتر* سبب نگرانی بیشتری است و از این رو، به کارگیری رژیم‌های درمانی جدید و حساسیت بیشتر در تشخیص به‌موقع و کنترل عفونت‌های بیمارستانی و دامپزشکی امری ضروری به نظر می‌رسد.

References

- (1) Harding CM., Hennon SW., Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology* 2018; 16(2): 91-102.
- (2) Mirshekar M., Shahcheraghi F., Azizi O., Solgi H., Badmasti F. Diversity of class 1

مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۶، مقاومت به کولیستین را در حیوانات و جمعیت انسانی چینی مشاهده و اثبات کردند (۱۵). در مطالعه‌ای که Smolyakov و همکاران به‌منظور بررسی عفونت‌های ناشی از *اسیتوباکتر بومانی* با مقاومت دارویی چندگانه انجام دادند، مشخص شد ۹۳ درصد سویه‌ها به ای‌می‌پنم و تمام سویه‌ها به کولیستین و آمپی‌سیلین - سولباکتام حساس هستند (۱۶). در مطالعه حاضر نیز حساسیت سویه‌ها به آمپی‌سیلین اثبات شد، اما مقاومت ۸۶ درصدی نسبت به ای‌می‌پنم مشاهده شد که در تضاد با مطالعه یادشده است و به نظر می‌رسد زمان و جغرافیای نمونه‌برداری در این تفاوت مؤثر باشند.

در مطالعه دیگری، Tavakol و همکاران به ردیابی شایع‌ترین ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی پرداختند و در راستای داده‌های به‌دست آمده در این مطالعه تأیید کردند استفاده از روش‌های مولکولی به‌ویژه Multiplex PCR در کنار آزمون آنتی‌بیوگرام، روش مناسبی برای تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و کنترل عفونت *اسیتوباکتر بومانی* است (۱۰، ۱۲ و ۱۷)؛ از این رو، Multiplex PCR استفاده شد که در مطالعه‌های مختلف نشان داده شده است توانایی تولید اطلاعات بیشتر با کمترین میزان نمونه را نسبت به روش‌های سنتی و PCR معمولی دارد، زمان بسیار کمتری مصرف می‌کند، مقرون‌به‌صرفه است و موجب افزایش دقت در تحلیل داده‌ها می‌شود (۱۸ و ۱۹). مطالعه حاضر نشان داد وجود ژن‌های دسته ژنی *arn* می‌تواند به بروز مقاومت نسبت به کولیستین در *اسیتوباکتر بومانی* منجر شود که در راستای مطالعه‌های دیگر است، اما تاکنون این موضوع به‌طور اختصاصی در مطالعه‌ای بررسی نشده است. ارتباط بین فنوتیپ مقاومت

- extensive drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates obtained from hospitalized patients in Southwestern Iran. *Le infezioni in medicina: rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive* 2018; 26(1): 67-76.
- (4) Logan LK., Gandra S., Trett A., Weinstein RA., Laxminarayan R. *Acinetobacter baumannii* resistance trends in children in the United States, 1999–2012. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society* 2018; 8(2): 136-142.
- (5) Bhamidimarri SP., Zahn M., Prajapati JD., Schleberger C., Söderholm S., Hoover J., et al. A multidisciplinary approach toward identification of antibiotic scaffolds for *Acinetobacter baumannii*. *Structure* 2019; 27(2): 268-280.
- (6) Mertins S., Higgins PG., Rodríguez MG., Borlon C., Gillemann Q., Mertens P., et al. Generation and selection of antibodies for a novel immunochromatographic lateral flow test to rapidly identify OXA-23-like-mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Medical Microbiology* 2019; 1021-1032.
- (7) Correa A., del Campo R., Escandón-Vargas K., Perenguez M., Rodríguez-Baños M., Hernandez-Gomez C., et al. Distinct genetic diversity of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Colombian hospitals. *Microbial Drug Resistance* 2018; 24(1): 48-54.
- (8) Yagnik KJ., Kalyatanda G., Cannella AP., Archibald LK. Outbreak of *Acinetobacter baumannii* associated with extrinsic contamination of ultrasound gel in a tertiary centre burn unit. *Infection Prevention in Practice* 2019; 1(2): 100009.
- (9) Wood CR., Mack LE., Actis LA. An update on the *Acinetobacter baumannii* regulatory circuitry. *Trends in Microbiology* 2018; 26(7): 560-562.
- integrons, and disruption of *carO* and *dacD* by insertion sequences among *Acinetobacter baumannii* isolates in Tehran, Iran. *Microbial Drug Resistance* 2018; 24(4): 359-366.
- (3) Soltani B., Heidari H., Ebrahim-Saraie HS., Hadi N., Mardaneh J., Motamedifar M. Molecular characteristics of multiple and
- (10) Tavakol M., Momtaz H., Mohajeri P., Shokoohzadeh L., Tajbakhsh E. Genotyping and distribution of putative virulence factors and antibiotic resistance genes of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from raw meat. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 2018; 7(1): 120-126.
- (11) Córdova-Espinoza MG., Arana EDH., Giono-Cerezo S., Atanacio EGS., Tapia EC., Vázquez LIC., et al. First report of new clonal groups ST706 and ST1088 from MDR *Klebsiella pneumoniae* Mexican strains. *bioRxiv* 2019: 616334.
- (12) Moradi J., Hashemi FB., Bahador A. Antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* in Iran: a systemic review of the published literature. *Osong public Health and Research Perspectives* 2015; 6(2): 79-86.
- (13) Kulengowski B., Burgess DS. Imipenem/relebactam activity compared to other antimicrobials against non-MBL-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from an academic medical center. *Pathogens and disease* 2019; 77(4): ftz040.
- (14) Ayan M., Durmaz R., Aktas E., Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a teaching hospital. *Journal of Hospital Infection* 2003; 54(1): 39-45.
- (15) Liu Y-Y., Wang Y., Walsh TR., Yi L-X., Zhang R., Spencer J., et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and

- molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases* 2016; 16(2): 161-168.
- (16) Smolyakov R., Borer A., RiesenberK., Schlaeffer F., Alkan M., Porath A., et al. Nosocomial multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. *Journal of Hospital Infection* 2003; 54(1): 32-38.
- (17) Ostadi Y., Rezai AA., Moghadampour M., Faghri J. The involvement of drug efflux system in amikacin resistance of multiple drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Isfahan, Iran. *Journal of Medical Bacteriology* 2019; 8(1, 2): 13-20.
- (18) Edwards MC., Gibbs RA. Multiplex PCR: advantages, development, and applications. *Genome Research* 1994; 3(4): S65-S75.
- (19) Barratt K., Anderson TP., Fahey JA., Jennings LC., Werno AM., Murdoch DR. Comparison of the fast track diagnostics respiratory 21 and Seegene Allplex multiplex polymerase chain reaction assays for the detection of respiratory viruses. *British Journal of Biomedical Science* 2017; 74(2): 85-89.
- (20) Peymani A., Nahaei M-R., Farajnia S., Hasani A., Mirsalehian A., Sohrabi N., et al. High prevalence of metallo- β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a teaching hospital in Tabriz, Iran. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2011; 64(1): 69-71.
- (21) Safari M., Saidijam M., Bahador A., Jafari R., Alikhani MY. High prevalence of multidrug resistance and metallo- β -lactamase (M β L) producing *Acinetobacter baumannii* isolated from patients in ICU wards, Hamadan, Iran. *Journal of Research in Health Sciences* 2013; 13(2): 162-167.
- (22) Beigverdi R., Sattari-Maraji A., Emaneini M., Jabalameli F. Status of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* harboring carbapenemase: First systematic review and meta-analysis from Iran. *Infection, Genetics and Evolution* 2019; 73: 433-443.