Molecular and phenotypic evaluation of gentamicin resistance in clinical isolates of *Acinetobacter* spp.

Masoume Ravand- Seyede Tooba Shafighi

Department of Microbiology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Abstract

Introduction: Acinetobacter is an opportunistic pathogen involved in nosocomial urinary tract infections, bacteremia, wound and burn infections. Acinetobacter is responsible for difficult nosocomial infections due to its high resistance to the main antibiotics available. The spread of antibiotic resistance genes such as gentamicin through integron structures has become an important problem in the treatment of infections caused by Acinetobacter. The aim of the present study was to determine the phenotypic and molecular resistance to gentamicin in clinical isolates of Acinetobacter.

Materials and Methods: In this study, 30 Acinetobacter were collected from medical centers in Lahijan and Amlash. The isolates were examined using various biochemical tests. The antibiotic resistance pattern of gentamicin in the isolates was determined by the disk diffusion method based on the CLSI standard. Also, the minimum inhibitory concentration (MIC) of gentamicin was determined on resistant Acinetobacter isolates by the tube dilution method (macrodilution) and according to the CLSI standard. Then, the genomic DNA of the isolates was extracted by boiling method and the frequency of the aac(3)-IV gene was determined using the PCR method.

Results: According to the results of this study, resistance to gentamicin was determined in 40% of the isolates by the disk diffusion method. Also, resistance to gentamicin was reported in 33.33% of Acinetobacter isolates by the macrodilution method, with the highest and lowest MIC values being 125 µg/ml and 7.81, respectively. The frequency of the aac(3)-IV gene was observed to be 30%.

Conclusion: These results indicate the essential role of the aac(3)-IV gene in the development of resistance to gentamicin. Determining the frequency of gentamicin resistance in native isolates of Guilan using phenotypic and molecular methods is helpful in determining an effective treatment protocol.

Keywords: Acinetobacter, gentamicin, phenotypic, molecular, aac (3)-IV

ارزیابی مولکولی و فنوتیپی مقاومت به جنتامایسین در جدایه های بالینی اسینتوباکتر

معصومه راوند – سیده طوبی شفیقی

گروه میکروبیولوژی،واحد لاهیجان،دانشگاه آزاد اسلامی،لاهیجان،ایران.

چکیده

مقدمه: اسینتوباکتر به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب در عفونت های بیمارستانی مجاری ادراری، باکتریمی، عفونت زخم و سوختگی نقش دارد. اسینتوباکترها به دلیل مقاومت بالا در برابر آنتی بیوتیک- های اصلی موجود، مسئول عفونت های دشوار بیمارستانی هستند. گسترش ژن های مقاومت به آنتی- بیوتیک ها مانند جنتامایسین از طریق ساختارهای اینتگرونی ، به مشکل مهمی در درمان عفونت های حاصل از اسینتوباکترها تبدیل شده اند. هدف از مطالعه حاضر تعیین فنوتیپی و مولکولی مقاومت به جنتامایسین در جدایه های بالینی اسینتوباکتر می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تعداد ۳۰ اسینتوباکتر از مراکز درمانی سطح شهر لاهیجان و املش جمع- آوری گردید. جدایه ها با استفاده از آزمایش های بیوشیمیایی مختلف مورد بررسی قرار گرفت. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جنتامایسین درجدایه ها با روش انتشار از دیسک بر اساس استاندارد CLSI تعیین شد. هم چنین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) جنتامایسین بر روی جدایه های مقاوم اسینتوباکتر به روش رقت سازی در لوله (ماکرو دایلوشن) و بر طبق استاندارد CLSI تعیین شد. سپس DNA ژنومی جدایه ها با روش جوشاندن استخراج و فراوانی ژن *aac(3)-IV* با استفاده از روش PCR تعیین گردید.

نتایج: بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، مقاومت به جنتامایسین در ٤٠ درصد جدایه ها با روش انتشار از دیسک تعیین گردید. هم چنین مقاومت به جنتامایسین ۳۳/۳۳ درصد از جدایه های اسینتوباکتر با روش ماکرو دایلوشن گزارش شد، که بیشترین و کمترین میزان MIC به ترتیب ۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر و ۷/۸۱ بود. فراوانی ژن *aac (3)-IV* ۳۰ درصد مشاهده گردید.

نتیجه گیری: این نتایج نشان دهنده نقش اساسی ژن *aac (3)-IV* در ایجاد مقاومت به جنتامایسین می باشد. تعیین فراوانی مقاومت به جنتامایسین در جدایه های بومی گیلان با روش های فنوتیپی و مولکولی در تعیین پروتکل درمانی موثر ، کمک کننده است.

کلمات کلیدی: اسینتوباکتر، جنتامایسین، فنوتیپی، مولکولی، *aac (3)-IV*

Reference

Rynga, D., Shariff, M., & Deb, M. (2015). Phenotypic and molecular characterization of clinical isolates of Acinetobacter baumannii isolated from Delhi, India. Annals of clinical microbiology and antimicrobials, 14(1), 40.

D'Souza, R., Pinto, N. A., Phuong, N. L., Higgins, P. G., Vu, T. N., Byun, J. H., ... & Yong, D. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of Acinetobacter spp. panel strains: a cornerstone to facilitate antimicrobial development. Frontiers in Microbiology, 10, 559.

Valentine, S. C., Contreras, D., Tan, S., Real, L. J., Chu, S., & Xu, H. H. (2008). Phenotypic and molecular characterization of Acinetobacter baumannii clinical isolates from nosocomial outbreaks in Los Angeles County, California. Journal of clinical microbiology, 46(8), 2499-2507.

Sewunet, T., Asrat, D., Woldeamanuel, Y., Aseffa, A., & Giske, C. G. (2022). Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp. from clinical samples at Jimma medical center, Ethiopia. Frontiers in microbiology, 13, 951857.

Zahra, N., Zeshan, B., Qadri, M. M. A., Ishaq, M., Afzal, M., & Ahmed, N. (2021). Phenotypic and genotypic evaluation of antibiotic resistance of Acinetobacter baumannii bacteria isolated from surgical intensive care unit patients in Pakistan. Jundishapur J. Microbiol, 14(4), e113008.

Tilahun, M., Gedefie, A., Seid, A., Debash, H., & Shibabaw, A. (2025). Prevalence of phenotypic drug resistance profiles and multi-drug-resistant Pseudomonas and Acinetobacter species recovered from clinical specimens in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. BMC Infectious Diseases, 25(1), 737.