

## Investigating and determining the antibiotic resistance pattern of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients hospitalized in Tehran hospitals by PCR

Parisa Majdianfar<sup>1</sup>, Setareh Haghighat<sup>1\*</sup>, Farshad Hashemian<sup>2</sup>, Bahareh Nowruzi<sup>3</sup>

1- Department of Microbiology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran, [setareh\\_haghighat@yahoo.com](mailto:setareh_haghighat@yahoo.com)

2- Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3- Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

### Abstract

**Aim and Background:** *Acinetobacter baumannii* is an opportunistic bacterial pathogen responsible for a wide range of hospital-acquired infections. These bacteria take a variety of factors for resistance to different antibiotics, including resistance to  $\beta$ -lactams, aminoglycosides, and tetracyclines. The aims of this study were to determine the antimicrobial susceptibility pattern and prevalence of bla<sub>IMP4</sub>, bla<sub>CTX-M</sub>, tetA, and aadB genes in *A. baumannii* strains obtained from Imam Khomeini, Bahman, Bu-Ali, and Momenin hospitals.

**Material and Methods:** In this cross-sectional study, 100 clinical *Acinetobacter baumannii* isolates were collected from various hospitals in Tehran. After the identification of *Acinetobacter baumannii* isolates by biochemical tests, the antibiotic susceptibility test (Kirby-Bauer method) was done according to CLSI 2021 advice against 8 antibiotics. Finally, the bla<sub>IMP4</sub>, bla<sub>CTX-M</sub>, tetA, and aadB genes were determined among the antibiotic-resistant isolates using PCR.

**Results:** According to results, the disc diffusion results showed resistance rates of 90% for ciprofloxacin, 32% ceftazidime, 25% imipenem, 36% gentamicin, 34% streptomycin, 28% piperacillin, 5% polymyxin B and 63% tetracyclin. All isolates were susceptible to colistin. PCR results for bla<sub>IMP4</sub>, bla<sub>CTX-M</sub>, tetA, and aadB genes were detected in 63%, 62%, 76%, and 71% of resistant isolates respectively.

**Conclusion:** This study detected clinical *A. baumannii* isolates harboring antibiotic resistance genes. Identification of antibiotic resistance patterns in *A. baumannii* and investigation of molecular epidemiology is critical to controlling the rapid spread of antimicrobial-resistant strains.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, Antibiotic resistance, Antibiogram, PCR

## بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی *Acinetobacter baumannii* جدا شده

### از بیماران بستری در بیمارستان های تهران به روش PCR

پریسا مجیدیان فر<sup>۱</sup>، ستاره حقیقت<sup>۱\*</sup>، فرشاد هاشمیان<sup>۲</sup>، بهاره نوروزی<sup>۳</sup>

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه داروسازی بالینی، دانشکده داروسازی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، علوم تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

### چکیده

سابقه و هدف: باکتری *Acinetobacter baumannii* یک پاتوژن فرصت طلب است که مسئول طیف وسیعی از عفونت های بیمارستانی است. این باکتری ها عوامل مختلفی را برای مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های مختلف از جمله مقاومت در برابر بتالاکتام ها، آمینوگلیکوزیدها و تتراسایکلین ها دارند. هدف از این مطالعه تعیین الگوی حساسیت ضد میکروبی و شیوع ژن های *aadB* و *tetA*، *bla<sub>CTX-M</sub>*، *bla<sub>IMP4</sub>* در سویه های *A. baumannii* به دست آمده از بیمارستان های امام خمینی، بهمن، بوعلی و امیر المومنین بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی، ۱۰۰ ایزوله بالینی *Acinetobacter baumannii* از بیمارستان های مختلف تهران جمع آوری شد. پس از شناسایی جدایی های *Acinetobacter baumannii* توسط آزمون های بیوشیمیایی، آزمایش حساسیت به آنتی بیوتیک (روش کربی-بائر) طبق توصیه CLSI 2021 در برابر ۸ آنتی بیوتیک انجام شد. سرانجام، ژن های *bla<sub>CTX-M</sub>*، *bla<sub>IMP4</sub>*، *aadB* و *tetA* در میان جدایه های مقاوم به آنتی بیوتیک با استفاده از PCR تعیین شدند.

یافته ها: بر اساس نتایج انتشار دیسک، میزان مقاومت ۹۰٪ برای سیپروفلوکساسین، ۳۲٪ سفتازیدیم، ۲۵٪ ایمپنم، ۳۶٪ جنتامایسین، ۳۴٪ استرپتومایسین، ۲۸٪ پیپراسیلین، ۵٪ پلی میکسین B و ۶۳٪ تتراسایکلین را نشان داد. همه جدایه ها به کولیسیتین حساس بودند. PCR ژن های *bla<sub>CTX-M</sub>*، *bla<sub>IMP4</sub>* و *tetA* به ترتیب در ۶۳٪، ۶۲٪، ۷۶٪ و ۷۱٪ از ایزوله های مقاوم شناسایی شد.

نتیجه گیری: بطور کلی در این مطالعه جدایه های بالینی *A. baumannii* دارای ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک، شناسایی شد، شناسایی الگوهای مقاومت به آنتی بیوتیک در *A. baumannii* و بررسی اپیدمیولوژی مولکولی برای کنترل گسترش سریع سویه های مقاوم بسیار مهم است.

واژه های کلیدی: *Acinetobacter baumannii*، مقاومت به آنتی بیوتیک، آنتی بیوگرام، PCR

## مقدمه

اسینتوباکتر بومانی (*Acinetobacter baumannii*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های باکتری گرم منفی در ارتباط با عفونت بیمارستانی از جمله پنومونی در ارتباط با ونتیلاتورها، باکتری‌می، عفونت‌های مجاری ادراری، عفونت‌های زخم، پوست و مننژیت می‌باشد (۱). طی دهه‌های گذشته این باکتری به اغلب آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله سفالوسپورین‌های وسیع الطیف، پنی‌سیلین‌ها، کارباپنم‌ها، فلوروکینون‌ها و آمینوگلیکوزیدها مقاوم شده است (۲). چندین مکانیسم مختلف در ایجاد فنوتیپ مقاوم به چند دارو در *Acinetobacter baumannii* نقش دارند از جمله کاهش نفوذپذیری پروتئین غشای خارجی یا OMP، از دست دادن ژن‌های کد کننده پورین‌ها، تولید آنزیم‌های تخریب‌کننده داروها مانند بتالاکتامازها، بیان بیش از حد پمپ‌های تراوشی که در نتیجه جهش ژنی تعداد این‌گونه پمپ‌ها افزایش پیدا کرده است، همچنین کسب عوامل ژنتیکی حمل‌کننده عوامل ایجاد مقاومت از جمله پلاسمیدها، اینترگون‌ها، ترانسپوزون‌ها و جزایر مقاومت از جمله این مکانیسم‌ها هستند (۳). به واسطه ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در این باکتری، مشکلات فراوانی در درمان موفقیت‌آمیز بیماران و در پی آن مرگ‌ومیر ایجاد شده است. انعطاف‌پذیری ژنی *Acinetobacter baumannii* اجازه می‌دهد تا انباشت وسیعی از عوامل تعیین‌کننده مقاومت در این باکتری ایجاد شود. یکی از آنتی‌بیوتیک‌هایی که این باکتری بسیار به آن مقاوم شده است آنتی‌بیوتیک کارباپنم می‌باشد که علت ایجاد این مقاومت مکانیسم بیوشیمیایی می‌باشد که آنزیم بتالاکتاماز در آن دخیل است.

\*آدرس نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

پست الکترونیک: [setareh\\_haghighat@yahoo.com](mailto:setareh_haghighat@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۰۹/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۲/۱۴

قرار گرفتن پروموتور ژن ISAbal متعلق به خانواده IS4 در بالادست ژن *bla<sub>ampC</sub>* باعث افزایش بیان ژن آنزیم بتالاکتاماز شده است (۴). طیف گسترده‌ای از Amp<sub>c</sub> (ESAC) در بتالاکتاماز شناسایی شده است. همچنین *Acinetobacter baumannii* فعالیت مقاومتی بسیار قوی را علیه سفالوسپورین‌ها و مونو باکتام‌ها به وسیله جایگزینی ژن pro210Arg و دوبل کردن Ala در موقعیت ۲۱۵ لوپ امگا از خود نشان می‌دهد (۵). اسینتوباکتر بومانی یک ژن دیگر به نام OXA-51 را نیز برای بتالاکتاماز کد می‌کند که واریانت‌های جهشی بسیاری نیز برای آن گزارش شده است. یک رویکرد و تکنیک مناسب مولکولی و تشخیصی مقایسه‌ای در رابطه با ژن *Acinetobacter baumannii* می‌تواند ژن‌های مقاومت دارویی *Acinetobacter baumannii* را به درستی ردیابی و شناسایی کند. روش مولکولی PCR برای بررسی ژن‌های مقاومت دارویی در اسینتوباکتر بومانی و توالی‌یابی این ژن‌ها برای شناسایی جامع الگوی مقاومت دارویی *Acinetobacter baumannii* روش مناسبی می‌باشد (۶). از این رو هدف این تحقیق بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *Acinetobacter baumannii* جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه آزاد در تهران به روش PCR و شناسایی الگوی مقاومت دارویی برای ساخت آنتی‌بیوتیک‌های جدید بود.

## مواد و روش‌ها

کشت و جداسازی باکتری‌ها: ابتدا تعداد ۱۲۰ نمونه *Acinetobacter baumannii* از بیماران بستری شده از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های امام خمینی، بهمن، بوعلی و امیرالمؤمنین در تهران جمع‌آوری شده جهت خالص‌سازی و صحت هویت این نمونه‌ها، باکتری‌ها روی محیط کشت استریل EMB و مک کانتکی آگار کشت داده شده و سپس تأیید نهایی شدند. پس از تأیید، تعداد ۱۰۰ نمونه مشکوک به جنس *Acinetobacter* شناسایی شدند، آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن برای هر سویه انجام شد.

بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران

گردید. بعد از تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و شناسایی انواع مقاوم، حضور و عدم حضور ژن‌های موردنظر در این مطالعه با استفاده از تکنیک واکنش زنجیرهای پلی مرز (PCR) تأیید شد.

#### PCR نمونه DNA های استخراج شده از باکتری‌ها:

قبل از انجام آزمون PCR با توجه به نیاز، DNA سوش های باکتریایی به روش استاندارد مطابق با دستورالعمل کیت استخراج (DNA) سیناکلون استخراج شدند. جهت انجام PCR، در مرحله اول با توجه به سکانس ژن هایی که از سایت NCBI، گرفته شده بود توسط برنامه Gene Runner، پرایمرهای هر ژن طراحی و بلست گردید، توالی پرایمرهای استفاده شده در این تحقیق طبق جدول زیر است:

**دیسک‌های آنتی بیوتیکی:** دیسک‌های آنتی بیوتیکی شامل ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، تتراسایکلین، سفنازیدیم، پپیراسیلین، استرپتومایسین و پلی میکسین از شرکت Bioanalyse Turkey خریداری و طبق دستور العمل شرکت در یخچال و دمای ۴°C نگهداری شدند.

**تهیه استاندارد نیم مک فارلند:** استاندارد نیم مک فارلند یک سوسپانسیون حاصل از مخلوط کردن ۰/۵ ml (۰/۰۴۸ mol/ml) باریم کلرید<sup>۱</sup> آبدار یک درصد و ۵/۹۹ (۰/۱۱۸ mol/ml) اسیدسولفوریک<sup>۲</sup> یک درصد است، کدورت این سوسپانسیون معادل  $10^8 \times 1/5$  باکتری در میلی لیتر است. جذب یک سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند در طول موج ۶۲۵ nm در محدوده ۰/۰۸ - ۰/۱۳ قرار دارد.

**آزمون آنتی بیوگرام:** برای انجام آنتی بیوگرام، ابتدا سوسپانسیونی از کشت خالص باکتری‌های مورد آزمایش با کدورت معادل نیم مک فارلند تهیه شد. برای استانداردسازی دانسیته تلقیح باکتری، از کدورت مطابق با استاندارد نیم مک فارلند استفاده شد و با هم زدن مداوم یک سوسپانسیون همگن تهیه گردید. چگالی صحیح استاندارد با تعیین جذب این سوسپانسیون که توسط دستگاه نانودراپ در طول موج ۶۲۵ nm سنجیده شد، بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ گزارش شد. بلافاصله بعد از ساخت استاندارد نیم مک فارلند نمونه‌ها پس از مقایسه با استاندارد تهیه و به وسیله سواپ استریل بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت چمنی داده شدند، سپس در فاصله کمتر از ۱۵ دقیقه، دیسک‌های آنتی بیوتیکی شامل ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، تتراسایکلین، سفنازیدیم، پپیراسیلین، استرپتومایسین و پلی میکسین با فواصل منظم، بر روی محیط مولر هینتون آگار استریلی که از قبل تهیه شده بود، قرار داده شد و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ الی ۲۴ ساعت انکوبه

<sup>1</sup> BaCl<sub>2</sub>

<sup>2</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران

جدول ۱: توالی پرایمرهای استفاده شده در روش PCR و وزن خالص محصول و دمای اتصال

نام ژن	توالی پرایمر	طول باند	دمای اتصال	
			خالص (bp)	(°C)
۱ <i>bla<sub>CTX-M-15</sub></i>	Forward 5'GGGACTATTCATGTTGTTGTTATTTTCG3'	۹۱۲bp	۵۶/۳	۵۶
	Reverse 5'TGACGATTTTAGCCGCCGA3'		۵۶/۵	
۲ <i>tetA</i>	Forward 5'TTCAATCGGACCAGCGGAG3'	۱۲۷۵bp	۵۵/۸	۵۸
	Reverse 5'CTCGTTGCCCTGCGCC3'		۵۵/۷	
۳ <i>bla<sub>IMP4</sub></i>	Forward 5'ATCTGTATTCTTTATATTTTTGTTTTGTAGC3'	۷۴۱bp	۵۲/۹	۵۴
	Reverse 5'TAGTTGCTTAGTTTTGATGGTTTTTTAC3'		۵۳/۴	
۴ <i>aadB</i>	Forward 5'ATGAGGGAAGCGGTGATCG3'	۵۱۶bp	۵۲/۸	۵۱/۵
	Reverse 5'ATTTGCCGACTACCTTGGTGA3'		۵۰/۷	

مرحله طویل شدن نهایی که در این مرحله دمای ۷۲°C در مدت زمان ۱۰ دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. مرحله نگهداری نهایی که مرحله نهایی سرد کردن محفظه واکنش تا ۴ درجه سانتی گراد برای یک زمان نامحدود است و این مرحله برای ذخیره سازی کوتاه مدت محصولات PCR استفاده شد. در نهایت نمونه ها بلافاصله بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ اجرا شدند.

### نتایج و بحث

اطلاعات مربوط به بیماران بستری شده، بخش های محل جمع آوری نمونه ها در بیمارستان و نوع نمونه بیمارستانی به ترتیب در جداول زیر (۳ و ۲) نشان داده شده است.

با توجه به اطلاعات به دست آمده، فراوانی سویه های *Acinetobacter baumannii* در بخش ICU از همه بخش ها بیشتر بود.

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر مخلوط واکنش (۱۲/۵ میکرو لیتر مستر میکس شرکت سیناکلون، ۱/۵ میکرو لیتر از هر پرایمر و ۱/۵ میکرو لیتر DNA باکتری و بقیه آب مقطر استریل) در طی ۳۵ سیکل، شامل مرحله آغازی که این مرحله برای DNA پلیمرازی که نیازمند فعال سازی گرمایی به وسیله Hot-start PCR است، لازم می باشد و شامل گرم کردن محفظه واکنش تا دمای ۹۵ درجه سانتی گراد برای پلیمراز مورد آزمایش می باشد که این مرحله ۱۰ دقیقه به طول انجامید. مرحله دناتورده شدن با دمای ۹۵°C در مدت زمان ۵ دقیقه. مرحله اتصال که برای متصل شدن پرایمرها به نمونه مورد نیاز است و برای ژن های مورد مطالعه دماهای متفاوتی را شامل شد که در جدول ۱ آورده شده است، مرحله طویل شدن که آنزیم DNA polymerase که همانندسازی را آغاز می کند با دمای ۷۲°C در مدت زمان ۱ دقیقه اعمال شد،

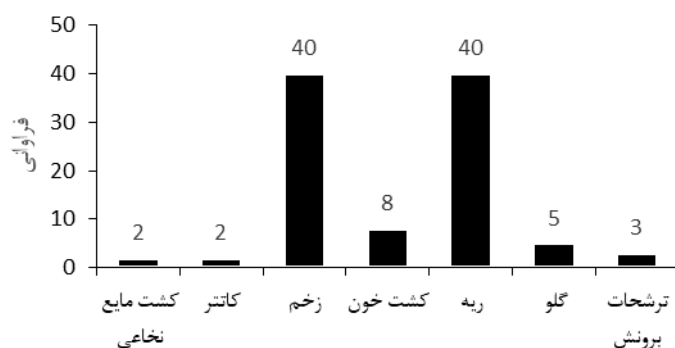
بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران

جدول ۲: فراوانی سویه‌های *Acinetobacter baumannii* با توجه به بخش‌های بیمارستانی

ICU	دپارتمان زنان	اعصاب مردان	ارتوپدی	تعداد کل
۷۷	۹	۷	۷	۱۰۰
۷۷٪	۹٪	۷٪	۷٪	۱۰۰٪

جدول ۳: فراوانی سویه‌های *Acinetobacter baumannii* در نمونه‌های جمع‌آوری شده

ترشحات برونش	خلط	ریه	کشت خون زخم	کاتتر	کشت مایع نخاعی	مابغ تعداد کل
۳	۵	۴۰	۸	۲	۲	۱۰۰
۳٪	۵٪	۴۰٪	۸٪	۲٪	۲٪	۱۰۰٪



شکل ۱- فراوانی سویه‌های *Acinetobacter baumannii* در نمونه‌های بیمارستانی

کاتالاز مثبت، ایندول منفی، غیر متحرک و معمولاً نیترات منفی هستند (۷).

آزمون‌های بیوشیمیایی تأییدی برای *Acinetobacter baumannii* در جدول ۴ نمایش داده شده است.

سویه‌های اسینتوباکتر، باسیل‌های گرم منفی هستند، که به خوبی بر روی MacConkey آگار بدون نمک رشد می‌کنند. اگرچه رسماً به عنوان تخمیر نشده لاکتوز طبقه‌بندی نشده است، اما اغلب وقتی که روی آگار MacConkey رشد می‌کنند تا حدی جزئی تخمیر لاکتوز می‌شوند. آن‌ها اکسیداز منفی،

جدول ۴: آزمون‌های بیوشیمیایی تأییدی برای *Acinetobacter baumannii*

بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران

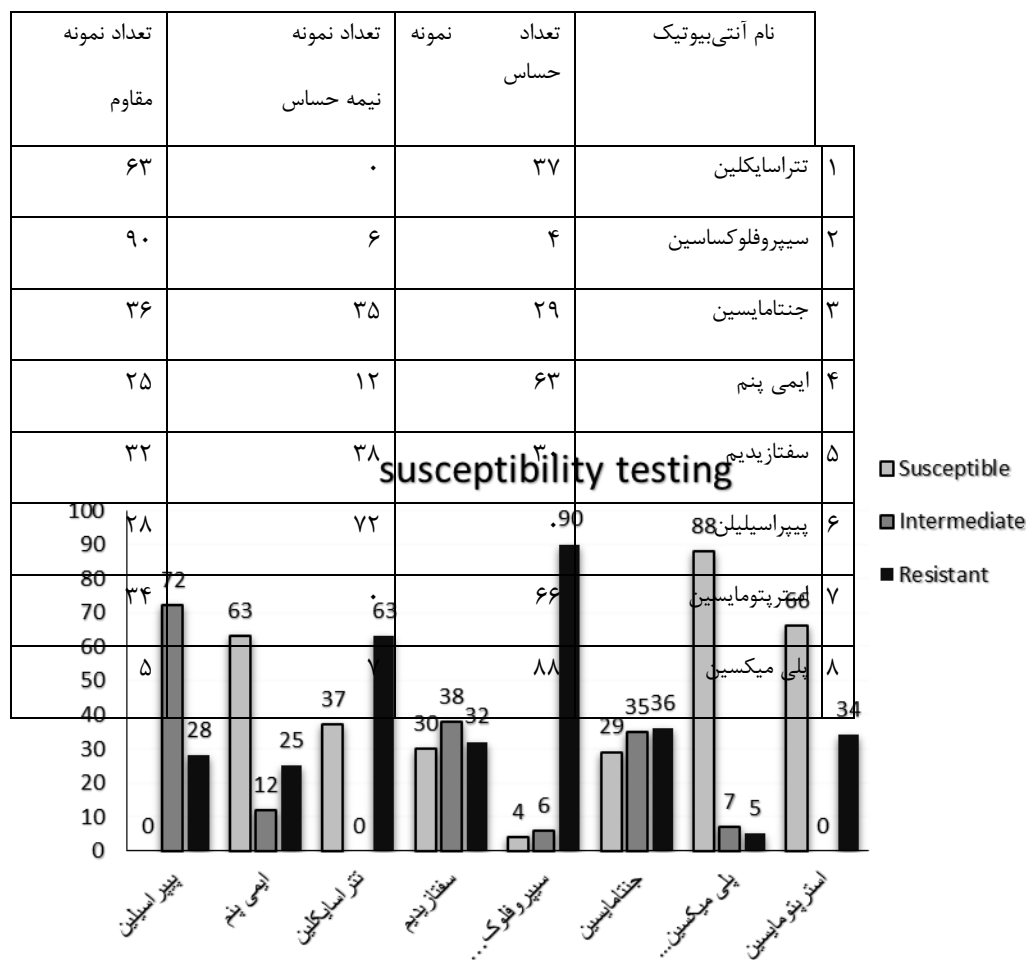
آزمون بیوشیمیایی	تخمیر لاکتوز	اکسیداز	کاتالاز	ایندول	حرکت
<i>Acinetobacter baumannii</i>	+	-	+	-	-

آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی (آنتی بیوگرام)

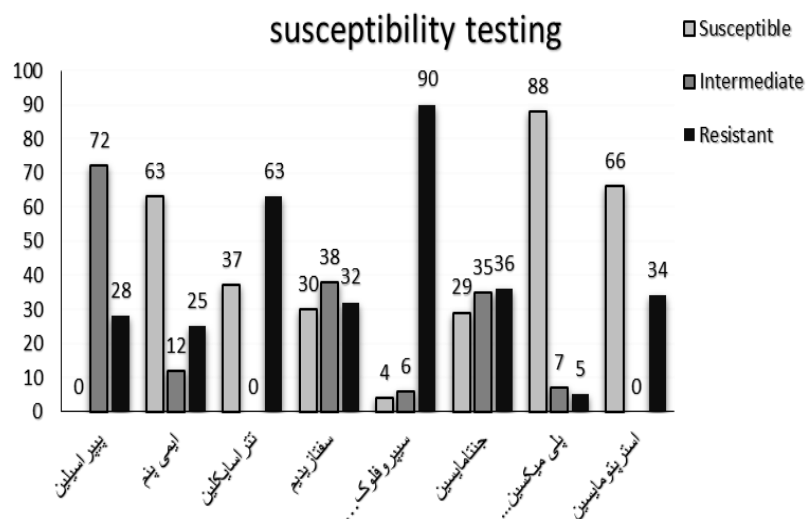
بر روی ۱۰۰ نمونه *Acinetobacter baumannii* به طور جداگانه دیسک های آنتی بیوتیکی قرار داده شدند. در این مطالعه ۸ آنتی بیوتیک مورد بررسی قرار گرفتند. میزان

مقاومت آنتی بیوتیکی بر اساس دستورالعمل CLSI 2021 مشخص شده است. نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی در جدول ۵ و شکل ۲ نشان داده شده است.

جدول ۵: درصد حساسیت و مقاومت نمونه های *Acinetobacter baumannii* به آنتی بیوتیک ها



بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران



شکل ۲- تعداد و درصد مقاومت نمونه‌های *Acinetobacter baumannii* به آنتی بیوتیک‌های مورد آزمایش

که به تتراسایکلین مقاوم بودند، ۴۸ نمونه حاوی ژن tetA بودند. از میان ۳۴ نمونه که به ایمی پنم و پپیراسیلین و سفنازیدیم مقاوم بودند، ۲۱ نمونه حاوی ژن bla<sub>CTX-M</sub> بودند. از میان ۵۱ نمونه که به استرپتومایسین و جنتامایسین مقاوم بودند، ۳۶ نمونه حاوی ژن aadB بودند. در شکل ۳ و جدول ۶ درصد وجود ژن‌های مقاومت مشخص شده‌اند. نتایج الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱.۵٪ در شکل ۴ نشان داده شده است.

### نتایج حاصل از PCR

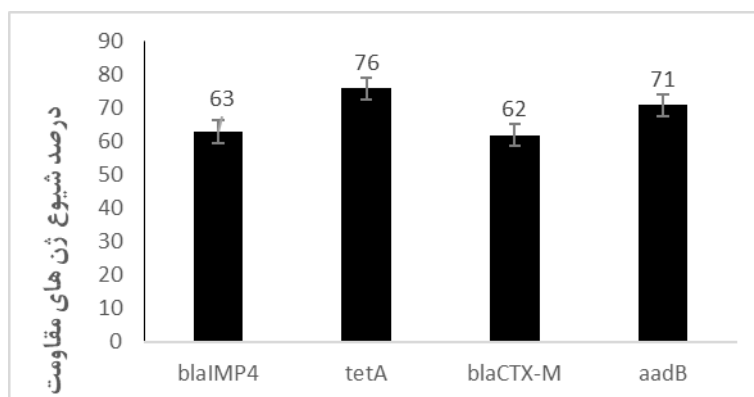
برای بررسی میزان شیوع ژن‌های bla<sub>IMP4</sub>، tetA و bla<sub>CTX-M</sub> و aadB نمونه‌های مقاوم جدا شدند. در این مطالعه موارد زیر بررسی شدند، شیوع ژن bla<sub>IMP4</sub> در نمونه‌های مقاوم به ایمی پنم و پپیراسیلین و سفنازیدیم ۳۰ نمونه، شیوع ژن tetA در نمونه‌های مقاوم به تتراسایکلین ۶۳ نمونه، شیوع ژن bla<sub>CTX-M</sub> در نمونه‌های مقاوم به ایمی پنم و پپیراسیلین و سفنازیدیم ۳۴ نمونه، شیوع ژن aadB در نمونه‌های مقاوم به استرپتومایسین و جنتامایسین ۵۱ نمونه، از میان ۳۰ نمونه که به ایمی پنم و پپیراسیلین و سفنازیدیم مقاوم بودند، ۱۹ نمونه حاوی ژن bla<sub>IMP4</sub> بودند. از میان ۶۳ نمونه



بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران

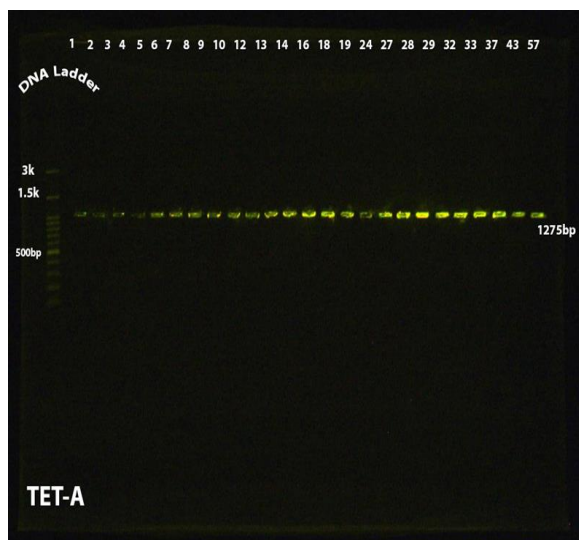
جدول ۶: نتایج میزان شیوع ژن مقاومت در نمونه‌های *Acinetobacter baumannii*

نام ژن	درصد وجود ژن	تعداد وجود ژن	تعداد نمونه‌های مقاوم
bla <sub>IMP4</sub>	۶۳٪	۱۹	۳۰
tetA	۷۶٪	۴۸	۶۳
bla <sub>CTX-M</sub>	۶۲٪	۲۱	۳۴
aadB	۷۱٪	۳۶	۵۱

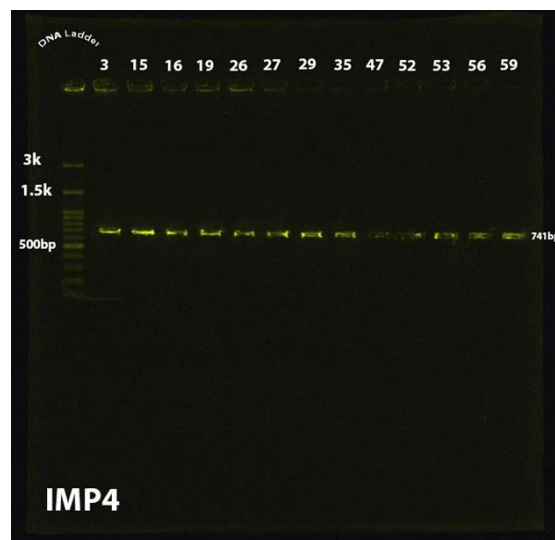


شکل ۳- درصد شیوع ژن‌های مقاومت در نمونه‌های *Acinetobacter baumannii*

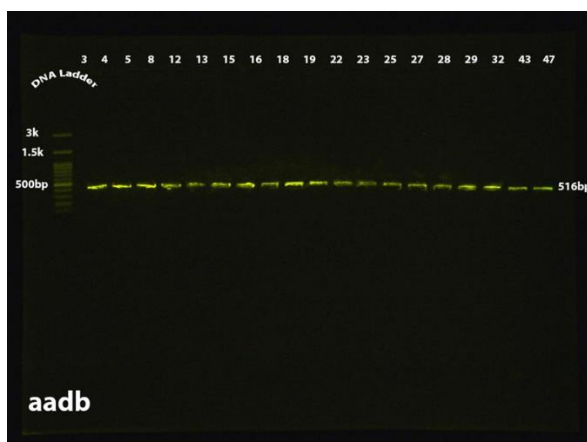
بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران



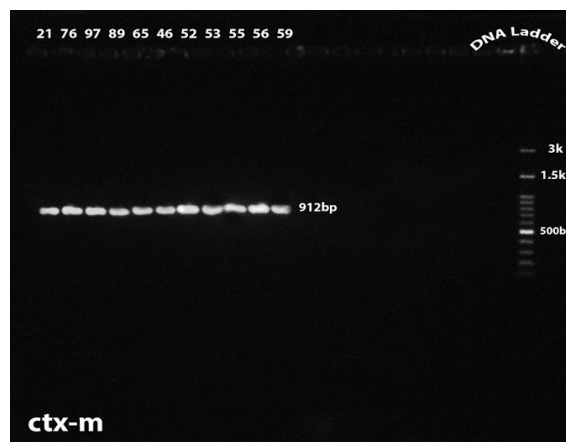
ژن tetA با طول باند 1275bp



ژن blaIMP4 با طول باند 741bp



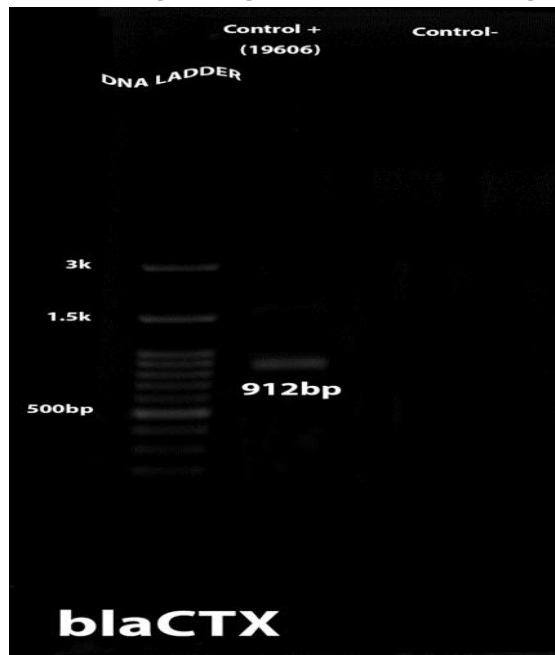
ژن aadB با طول باند 516bp



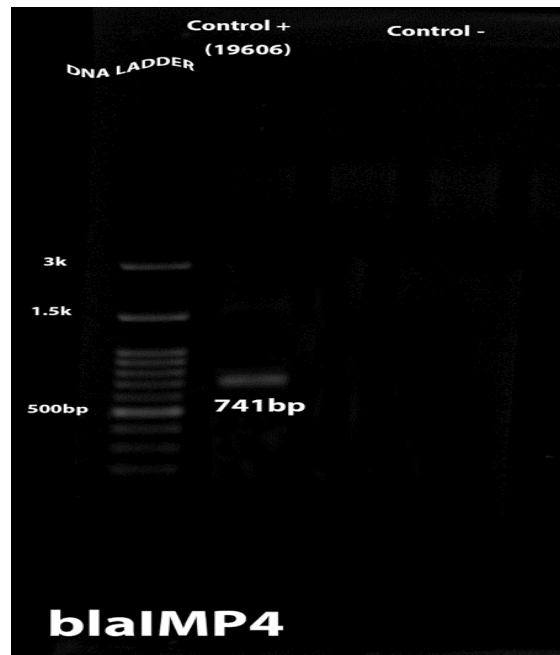
ژن blaCTX-M با طول باند 912bp

شکل ۴- الکتروفورز محصول PCR ژنهای مورد مطالعه روی ژل آگارز ۱/۵٪

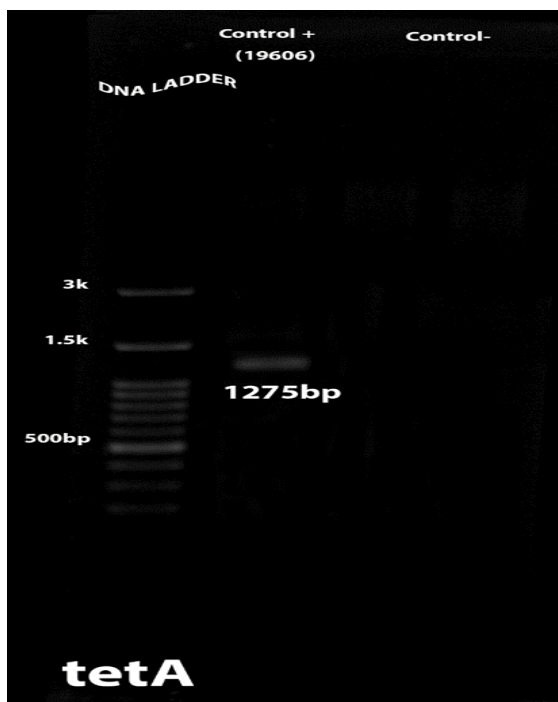
بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران



ژن blaCTX



ژن blaIMP



ژن tetA



ژن aadB

شکل ۵- الکتروفورز نتایج کنترل مثبت و منفی برای ژن‌های مورد مطالعه

بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران

اسینتوباکتر بومانی به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب بیمارستانی که در عفونت‌های بیمارستانی به ویژه در بخش مراقبت‌های بهداشتی (ICU) نقش بسیار مهمی دارد، شناخته شده است. مقاومت ضد میکروبی در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی به یک مشکل جهانی تبدیل شده است (۸). ظهور ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی با فنوتیپ‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی مختلف، درمان عفونت‌های ناشی از این پاتوژن را با مشکل مواجه کرده است. با توجه به منابع بررسی شده و همچنین با توجه به نتایج مطالعه حاضر بیشتر سویه‌های اسینتوباکتر بومانی از بخش (ICU) و از نمونه‌های دستگاه تنفسی بیماران به دست می‌آیند؛ بنابراین این بخش بیمارستانی و نمونه‌های ریه باید به عنوان منبع اصلی این باکتری‌ها همواره مدنظر قرار گیرد و در این مورد باید به مسائل مربوط به بخش و همچنین مسائل مربوط به کارکنان بخش مراقبت‌های ویژه نظیر لوازم مورد استفاده جهت جابه‌جایی ترشحات دستگاه تنفسی و هم به ضد عفونی محیط داخلی بخش و هم به ضد عفونی صحیح وسایل و تجهیزات توجه گردد. Chang و همکاران (۲۰۱۵) و Liu و همکاران (۲۰۱۵) در کشور چین، Aksoy و همکاران (۲۰۱۳) در کشور ترکیه، بیشترین نمونه‌های جمع‌آوری شده را از بخش ICU اعلام کردند که تمام موارد فوق مشابه نتیجه مطالعه حاضر است (۹-۱۱). همچنین منابع و تعداد سویه‌های *Acinetobacter baumannii* در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بیشترین سویه‌ها مربوط به نمونه‌های زخم در صورتی که کمترین نمونه‌ها مربوط به نمونه‌های کاتترو کشت مایع نخاعی (CSF2) می‌باشد. در این پژوهش

آنتی‌بیوتیک پلی مکسین B فعالیت بهتری نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر اسینتوباکتر بومانی داشته که البته خود نیز نسبت به مطالعات شجاع و همکاران که (۲۰۱۶) در اهواز و خسروشاهی و همکاران (۲۰۱۶) در تبریز انجام دادند با مقاومت پایین‌تری مواجه است، طوری که میزان مقاومت در هر دو مطالعه نسبت به این آنتی‌بیوتیک به ترتیب ۰٪ و ۱۶٪ بوده است (۱۲، ۱۳)، در مطالعه حاضر میزان مقاومت در مطالعه حاضر ۵٪ می‌باشد؛ که این امر نشان دهنده ثبات مقاومت سویه‌های باکتری اسینتوباکتر بومانی طی زمان می‌باشد. کاربایتم‌ها در سال‌های گذشته به عنوان داروی انتخابی برای درمان عفونت‌های جدی بیمارستانی ناشی از اسینتوباکترها مورد توجه بوده‌اند. با این حال سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به کاربایتم در سراسر جهان گزارش شده‌اند و روند مقاومت به این کلاس آنتی‌بیوتیکی با گذشت زمان در این سویه‌ها رو به افزایش است. در این مطالعه میزان مقاومت نسبت به ایمپی پنم ۲۵٪ گزارش شد که این میزان تقریباً مشابه با مطالعات قبلی صورت پذیرفته بر روی این باکتری در نقاط دیگر ایران است. در مطالعه صورت پذیرفته توسط خسروشاهی و شریفی (۲۰۱۷) روی ایزوله‌های بالینی *Acinetobacter baumannii* در شهر تبریز میزان مقاومت نسبت به ایمپی پنم ۲۶/۷٪ گزارش شد (۱۳). هاشمی زاده و همکاران (۲۰۱۰) در شیراز میزان مقاومت به ایمپی پنم را ۱۳٪ گزارش دادند (۱۴). در مطالعه پیمانی و همکاران (۲۰۱۱) در تبریز میزان مقاومت به ایمپی پنم و مروپنم به ترتیب ۵۴٪ و ۵۶٪ بوده است (۱۵). همچنین میزان مقاومت در مطالعه انجام گرفته توسط شریف

بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فر و همکاران

(۲۰۱۴) در شهر تهران به ایمی پنم ۸۵/۵٪ و مروپنم ۲۸٪ بوده است (۱۶). مطالعه حاضر که به هدف بررسی ارزیابی حضور ژن‌های بتالاکتامازی *bla*<sub>IMP4</sub> و *bla*<sub>CTX-M</sub>، همچنین آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی و تتراسایکلین در سویه‌های بالینی *Acinetobacter baumannii* جداسازی شده از بیماران بستری شده در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های امام‌خمینی، بهمن، بوعلی و امیرالمؤمنین در تهران صورت پذیرفته بود، نشان داد که این سویه‌ها نسبت به سال‌های قبل به اغلب آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت بیشتری از خود نشان داده‌اند و این احتمالاً به دلیل افزایش تولید این مقاومت‌ها توسط سویه‌های *Acinetobacter baumannii* باشد و این نشان‌دهنده یک نگرانی جدی است؛ بنابراین شناسایی سویه‌های مقاوم به کاربپنم و الگوی مقاومت ژنی آن‌ها، به‌کارگیری راهکارهای مناسب جهت کنترل عفونت‌های ناشی از سویه‌های *Acinetobacter baumannii* و تلاش برای کاهش میزان انتقال آن‌ها در بخش‌های بیمارستانی، برای درمان مناسب عفونت‌های ایجادشده توسط این سویه‌ها بسیار ضروری به نظر می‌رسد. تکنیک PCR که در مطالعه حاضر به کار گرفته شد، یک روش بسیار سریع و قابل اطمینان برای شناسایی ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های فوق ذکر در سویه‌های بالینی *Acinetobacter baumannii* می‌باشد.

### سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از رساله مقطع کارشناسی ارشد میکروبیولوژی مصوب در دانشگاه آزاد علوم پزشکی

تهران، دانشکده علوم و فن آوی‌های نوین بود. در این پژوهش از امکانات آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی دانشکده علوم نوین، استفاده شد.

### منابع

1. Nguyen M, Joshi S. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. *Journal of applied microbiology*. 2021;131(6):2715-38.
2. López M, Blasco L, Gato E, Perez A, Fernández-García L, Martínez-Martínez L, et al. Response to bile salts in clinical strains of *Acinetobacter baumannii* lacking the AdeABC efflux pump: virulence associated with quorum sensing. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017;7:143.
3. Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, Pantapalangkoor P, Luna B, Spellberg B. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. *Clinical microbiology reviews*. 2017;30(1):409-47.
4. Viehman JA, Nguyen MH. Treatment options for carbapenem-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Drugs*. 2014;74(12):1315-33.
5. Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P. Genetic basis of antibiotic resistance in pathogenic *Acinetobacter* species. *IUBMB life*. 2011;63(12):1061-7.
6. Li F-J, Starrs L, Burgio G. Tug of war between *Acinetobacter baumannii* and host immune responses. *Pathogens and disease*. 2018;76(9):ftz004.

بررسی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی.../مجدیان فرو و همکاران

7. Yusuf I, Skiebe E, Wilharm G. Evaluation of CHROMagar Acinetobacter and MacConkey media for the recovery of Acinetobacter baumannii from soil samples. Letters in Applied Microbiology. 2023;76(2):ovac051.
8. Medioli F, Bacca E, Faltoni M, Burastero GJ, Volpi S, Menozzi M, et al. Is it possible to eradicate carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii (CRAB) from endemic hospitals? Antibiotics. 2022;11(8):1015.
9. Chang Y, Luan G, Xu Y, Wang Y, Shen M, Zhang C, et al. Characterization of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii isolates in a Chinese teaching hospital. Frontiers in microbiology. 2015;6:910.
10. Liu Y, Liu X. Detection of AmpC  $\beta$ -lactamases in Acinetobacter baumannii in the Xuzhou region and analysis of drug resistance. Experimental and therapeutic medicine. 2015;10(3):933-6.
11. Aksoy MD, Çavuşlu Ş, Tuğrul HM. Investigation of metallo beta lactamases and oxacilinases in carbapenem resistant Acinetobacter baumannii strains isolated from inpatients. Balkan medical journal. 2015;32(1):79-83.
12. Shoja S, Moosavian M, Rostami S, Abbasi F, Tabatabaieifar MA, Peymani A. Characterization of oxacillinase and metallo- $\beta$ -lactamas genes and molecular typing of clinical isolates of Acinetobacter baumannii in Ahvaz, South-West of Iran. Jundishapur journal of microbiology. 2016;9(5).
13. Khosroshahi SA, Farajnia S, Azhari F, Hosseini MK, Khanipour F, Farajnia H, et al. Antimicrobial Susceptibility Pattern and Prevalence of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase Genotypes among Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii in Tabriz, North-West of Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2017;10(6).
14. Hashemizadeh Z, Emami A, Rahimi M. Acinetobacter antibiotic resistance and frequency of ESBL-producing strains in ICU patients of Namazi Hospital (2008-2009). Journal of Inflammatory Diseases. 2010;14(2):47-53.
15. Peymani A, Nahaei M-R, Farajnia S, Hasani A, Mirsalehian A, Sohrabi N, et al. High prevalence of metallo- $\beta$ -lactamase-producing Acinetobacter baumannii in a teaching hospital in Tabriz, Iran. Japanese journal of infectious diseases. 2011;64(1):69-71.
16. Sharif M. Molecular identification of TEM and SHV extended spectrum beta -lactamase in clinical isolates of Acinetobacter baumannii from Tehran hospitals. 2014.