دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هفدهم، شماره ۵، صفحه ۸۲۳ – ۸۱۵ (آذر و دی ۱۳۹۳)

ISMJ 2014;17(5): 815-823

تشخیص مولکولی ژن‌های پمپ تراوشی AdeABC در سویه‌های بالینی آسینتوباکتر بومانی و ارزیابی نقش آن در ایجاد مقاومت نسبت به ایمیپنم

علیرضا ژاپونی‌نژاد [۱ و ۲]، معصومه صوفیان [۳]، احسان ا.. غزنوی‌راد [۲ و ۴*]

[۱] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
[۲] گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
[۳] گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
[۴] مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

(دریافت مقاله: ۹۱/۱۲/۱۷- پذیرش مقاله: ۹۲/۲/۵)

Archive of SID

چکیده

زمینه: یکی از مشکلات ایجاد شده توسط آسینتوباکتر بومانی بروز مقاومت چند دارویی می‌باشد. پمپ‌های تراوشی ایجاد کننده مقاومت چند دارویی نقش اساسی را در ایجاد مقاومت در این باکتری ایفا می‌کنند. هدف از انجام این مطالعه بررسی فراوانی ژن‌های کد کننده پمپ تراوشی **AdeABC** در ایزوله‌های بالینی آسینتوباکتر بومانی و ارزیابی نقش آن در ایجاد مقاومت نسبت به ایمیپنم بوده است.

مواد و روش‌ها: ۵۶ ایزوله اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های بالینی مختلف بیمارستان ولی‌عصر اراک جمع‌آوری شد و توسط آزمایش‌های بیوشیمیایی استاندارد تعیین هویت شدند. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت بازدارنده ایمیپنم در حضور و عدم حضور مهار کننده پمپ تراوشی **CCCP** در ایزوله‌ها با استفاده از نوارهای **E-test** مطابق با دستورالعمل‌های **CLSI** تعیین گردید. ژن‌های پمپ تراوشی **AdeABC** با استفاده از روش **PCR** در ایزوله‌ها شناسایی شدند.

یافته‌ها: تمامی ۵۶ ایزوله آسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفوکسیتین، سفپیم، پیپراسیلین/ تازوباکتام، ازترونام و سیپروفلوکساسین مقاوم بودند، همچنین تمامی ایزوله‌ها با توجه به نتایج **MIC** نسبت به ایمیپنم مقاوم بودند. حداقل غلظت بازدارنده ایمیپنم در حضور مهار کننده پمپ تراوشی در ایزوله‌ها کاهشی نداشت. ژن‌های **adeA** و **adeB** در ۱۰۰ درصد ایزوله‌ها و ژن **adeC** در ۹۶/۵ درصد ایزوله‌ها یافت شدند.

نتیجه‌گیری: پمپ تراوشی**AdeABC** در ایجاد مقاومت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نقش دارد و در ایجاد مقاومت نسبت به ایمیپنم در ایزوله‌های مورد بررسی نقشی ندارد و مکانیسم‌های دیگر همچون آنزیم‌های کارباپنمازی در ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک نقش مهم‌تری را دارند.

واژگان کلیدی: آسینتوباکتر بومانی، پمپ تراوشی **AdeABC**، مقاومت به ایمیپنم

* اراک، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی،گروه میکروب‌شناسی

Email :e.ghaznavirad@arakmu.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

آسینتوباکتر بومانی، کوکوباسیل گرم منفی است که از بسیاری از منابع انسانی و محیطی جدا می‌گردد. این باکتری پاتوژن مهم و فرصت‌طلبی است که مسئول عفونت‌های بیمارستانی گوناگونی می‌باشد (۱).

طی دهه گذشته شیوع عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این باکتری در حال افزایش می‌باشد. این موضوع به‌ویژه در بیماران بستری شده در بخش‌های مراقبت ویژه، سوختگی و جراحی اهمیت بیشتری دارد (۱-۴).

یکی از مشکلات ایجاد شده توسط آسینتوباکتر بومانی بروز مقاومت چند دارویی (Multi drug resistance) می‌باشد که مشکلات زیادی را در درمان عفونت‌های بیمارستانی ایجاد شده توسط این باکتری چه از لحاظ هزینه‌های درمانی و چه از نظر بهبودی بیماران ایجاد می‌کند (۵، ۲۵ و۲۶).

به‌طور کلی چندین فاکتور در ایجاد مقاومت در این باکتری دخیل هستند از جمله پمپ‌های تراوشی ایجاد کننده مقاومت (Multi drug efflux pump)، پروتئین‌های غشا خارجی، تولید گروه‌های متنوعی از بتالاکتامازها و تولید آنزیم‌های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها (۲ و ۶). پمپ‌های تراوشی ایجاد کننده مقاومت نقش اساسی را در ایجاد مقاومت در این باکتری نسبت به طیف وسیعی از داروها و مواد ضدعفونی کننده ایفا می‌کنند (۷ و ۸). این باکتری‌ها با افزایش در بیان این پمپ‌ها به واسطه جهش باعث ایجاد مقاومت نسبت به طیف وسیعی از داروها می‌گردند (۲).

پمپ‌های تراوشی در باکتری‌ها به پنج دسته تقسیم می‌شوند (۹ و ۱۰) که شامل خانواده ATP binding cassette (ABC)، خانواده small multidrug resistanc (SMR)، خانواده resistance nodulation–cell division (RND)، خانواده multidrug and toxic compound extrusion (MATE) و خانواده major facilitator superfamily (MFS) می‌باشند. دسته اول انرژی خود را از ATP به‌دست می‌آورد. در حالی‌که مابقی پمپ‌ها با نیروی محرکه پروتونی (Proton motive force) انرژی به دست می‌آورند (۲ و ۳).

از مهم‌ترین پمپ‌های تراوشی که در ایجاد مقاومت در آسینتوباکتر بومانی نقش دارند، پمپ تراوشی RND می‌باشد (۴) که تاکنون سه نوع پمپ تراوشی سه جزئی از این دسته به نام‌های AdeABC، AdeIJK و AdeFGH در آسینتوباکتر بومانی شناسایی شده است (۲).

پمپ تراوشی سه جزئی AdeABC از پروتئین غشای خارجی کد شونده توسط ژن adeC، پروتئین فیوژن غشا کد شونده توسط ژن adeA و پروتئین غشای داخلی کد شونده توسط ژن adeB تشکیل شده است (۲ و ۱۱).

اپرون adeABC درحدود ۸۰ درصد (۵۳ تا ۹۷ درصد) از سویه‌های اسینتوباکتر بومانی وجود دارد (۲ و ۳). بیان بالای این پمپ (overexpression) باعث ایجاد مقاومت چند دارویی (MDR) در سویه‌ها می‌گردد. بیان این پمپ تحت تأثیر سیستم تنظیمی دو جزیی به‌نام AdeR-AdeS می‌باشد که این سیستم به‌وسیله اپرون adeRS که در بالا دست اپرون adeABC قرار دارد کد می‌گردد (۲ و ۳).

AdeABC در ایجاد مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها، بتالاکتام‌ها، تتراسایکلین، فلوروکینولون‌ها، تایگسیکلین، ماکرولیدها، کلرامفنیکل

Archive of SID

www.SID.ir

و تری‌متوپریم نقش دارد (۲، ۷ و ۱۲). نقش این پمپ در ایجاد مقاومت نسبت به کاربانپم‌ها مورد بحث می‌باشد به گونه‌ای که در بعضی از مطالعه‌ها عنوان شده که این پمپ نقشی در ایجاد مقاومت نسبت به کاربانپم ندارد (۱۳ و ۱۴) و در برخی دیگر از مطالعه‌ها نتایج به‌دست آمده نشان دهنده این بوده که این پمپ در ایجاد مقاومت نسبت به کاربانپم‌ها نقش دارد (۱۵ و ۱۶).

با توجه به اینکه در ایران تاکنون مطالعه‌ای بر روی نقش پمپ تراوشی adeABC در ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های آسینتوباکتر بومانی صورت نپذیرفته است، در این بررسی ایزوله‌های آسینتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان ولی‌عصر اراک از نظر وجود ژن‌های این پمپ تراوشی و نقش آن در ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که به‌صورت توصیفی- مقطعی صورت پذیرفت، ۵۶ ایزوله آسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های مختلف بالینی خون، مایع مغزی نخاعی، ادرار، ترشحات دستگاه تنفسی و زخم در مدت زمان بین شهریور ۱۳۹۰ تا فروردین ماه ۱۳۹۱ از بیماران بستری شده در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان ولیعصر اراک جمع‌آوری گردید. این مطالعه در جلسه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک با شماره ۹۰-۱۱۳-۵ تصویب شده است.

با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی استاندارد از جمله اکسیداز، TSI، رشد در مک کانکی، OF، اوره، سیترات، رشد در ۴۳ درجه سانتی‌گراد، SIM، ژلاتین، لایزین دکربوکسیلاز، هیدرولیز آرژنین وDnase گونه‌های اسینتوباکتر بومانی تعیین شدند.

سویه استاندارد آسینتوباکتر بومانی ATCC ۱۹۶۰۶ به‌عنوان کنترل مثبت در تشخیص ایزوله‌ها استفاده گردید.

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (کربی- بائر) بنا بر معیارهای مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI-۲۰۱۱) تعیین گردید (۱۷). دیسک‌ها محصول شرکت MAST (انگلستان) و به شرح زیر بودند: سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفوکسیتین، سفپیم، پیپراسیلین/ تازوباکتام، ازترونام، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین، جنتامایسین، تتراسایکلین و کلیستین. همچنین سویه استاندارد پسودوموناس آئروژینوزا ATCC۲۷۸۵۳ به‌عنوان کنترل آنتی‌بیوگرام استفاده گردید.

حداقل غلظت بازدارنده ایمیپنم با استفاده از نوارهای E-test (bioMérieux ،Marcy l'Etoile ،France) بنا بر دستورالعمل CLSI در حضور و عدم حضور مهار کننده پمپ تراوشی کربونیل سیانید m-کلروفنیل هیدرازون (CCCP) با غلظت‌های ۳۰ و ۵۰ میکرومولار (µM) جهت بررسی نقش پمپ تراوشی adeABC در ایجاد مقاومت نسبت به ایمیپنم در ایزوله‌ها تعیین گردید (۱۷).

استخراج DNA و انجام PCR

استخراج DNAی ایزوله‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA محصول کره جنوبی (Bio flux bioer) بنا بر دستورالعمل شرکت سازنده صورت پذیرفت.

آزمون PCR برای شناسایی ژن‌های پمپ تراوشی adeABC که شامل adeA، adeB و adeC بودند در ایزوله‌ها صورت پذیرفت. مشخصات پرایمرهای

Archive of SID

www.SID.ir

مورد استفاده و شرایط واکنش در جدول ۱ شرح داده شده است.

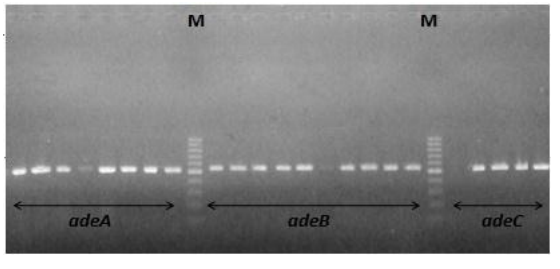
واکنش در حجم ۵۰ میکرولیتر انجام پذیرفت بدین‌ترتیب که ۱٫۵ میکرولیتر از پرایمر رفت، ۱/۵ میکرولیتر از پرایمر برگشت (۱۰ پیکومول)، ۲ میکرولیتر از DNA به‌عنوان الگو، ۲۵ میکرولیتر از Master mix 2XTaq (vivantis) و ۲۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر استفاده گردید.

جدول ۱) مشخصات پرایمرهای مورد استفاده و شرایط واکنش PCR

ژن‌های پمپ تراوشی	توالی پرایمرها	شرایط واکنش	سایز محصول pcr	منبع
adeA	F: ATCTTCCTGCACGTGTACAT R: GGCGTTCATACTCACTAACC	۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه در ۵۶ درجه سانتی‌گراد ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد	۵۱۳ bp	۱۱
adeB	F: TTAACGATAGCGTTGTAACC R: TGAGCAGACAATGGAATAGT	۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه در ۵۶ درجه سانتی‌گراد ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد	۵۴۱ bp	۱۱
adeC	F: TACGGACTGCTACGCTTAAT R: AACAGGATGACCTGCTAACA	۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه در ۵۶ درجه سانتی‌گراد ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد	۲۵۷ bp	۱۱

الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد و ولتاژ ۹۰ به‌مدت ۱ ساعت صورت پذیرفت. سپس ژل با استفاده از نور ماوراء بنفش مورد ارزیابی قرار گرفت، اندازه باندهای به‌دست آمده در مقایسه با مارکر ۱۰۰bp(Fermentas) مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۱).

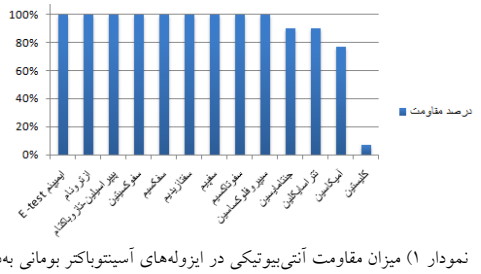
تعیین توالی DNA جهت ژن‌هایadeA، adeB و adeC در یکی از ایزوله‌ها صورت پذیرفت و این سویه به‌عنوان کنترل مثبت ژن‌های نام برده در آزمون PCR استفاده گردید.



شکل ۱) الکتروفورز محصول PCR مربوط به ژن‌های پمپ تراوشی adeABC، مارکر M=۱۰۰ bp

یافته‌ها

میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های آسینتوباکتر بومانی در این مطالعه بدین‌ترتیب بود که تمامی ۵۶ ایزوله (۱۰۰ درصد) آسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفوکسیتین، سفپیم، پی‌پراسیلین/ تازوباکتام، ازترونام و سیپروفلوکساسین مقاوم بودند، در حالی‌که میزان مقاومت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها به شرح ذیل بود: تتراسایکلین و جنتامایسین در ۵۰ ایزوله (۹۰ درصد)، آمیکاسین در ۴۳ ایزوله (۷۷ درصد) و کلیستین در ۴ ایزوله (۷ درصد) (نمودار ۱).



نمودار ۱) میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های آسینتوباکتر بومانی به‌دست آمده از بیمارستان ولیعصر اراک

Archive of SID
http://bpums.ac.ir
www.SID.ir

نتایج حاصل از حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) ایزوله‌های آسینتوباکتر بومانی نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمیپنم در عدم حضور مهار کننده پمپ تراوشی CCCP نشان داد که تمامی ۵۶ ایزوله (۱۰۰ درصد) نسبت به ایمیپنم مقاوم بودند، بدین‌ترتیب که میزان MIC ایمیپنم در ۵۳ ایزوله بیشتر از ۲۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر، در دو سویه ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و در یک سویه ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر شد.

نتایج حاصل از PCR جهت تعیین میزان فراوانی ژن‌های کد کننده پمپ تراوشی adeABC در ایزوله‌های آسینتوباکتر بومانی در این بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است

همچنین میزان MIC ایمیپنم در حضور مهار کننده پمپ تراوشی CCCP با غلظت‌های ۳۰ و ۵۰ میکرومولار (µM) در ایزوله‌هایی از آسینتوباکتر بومانی که دارای ژن‌های کد کننده پمپ تراوشی adeABC بودند به‌صورت قبل باقی ماند و تغییری نداشت.

جدول ۲) فراوانی ژن‌های کد کننده پمپ تراوشی adeABC در ایزوله‌های آسینتوباکتر بومانی در این مطالعه

نام ژن	تعداد ایزوله‌های دارای ژن	درصد ایزوله‌ها
adeA	۵۶	٪۱۰۰
adeB	۵۶	٪۱۰۰
adeC	۵۴	٪۹۶/۵

بحث

در این مطالعه فراوانی ژن‌های کد کننده پمپ تراوشی adeABC و نقش این پمپ تراوشی در ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمیپنم مورد بررسی قرار گرفت، با توجه به اینکه در ایران تاکنون دراین مورد مطالعه‌ای صورت نپذیرفته است.

آسینتوباکتر بومانی در دهه اخیر عامل بسیار مهمی جهت به‌وجود آوردن عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان‌ها می‌باشد. سویه‌های مقاوم به کارباپنم از این باکتری به مشکل بسیار بزرگی در دنیا تبدیل شده‌اند.این سویه‌ها به‌عنوان معضل جهانی مطرح می‌باشند زیرا درمان این سویه‌ها بسیار مشکل بوده است (۱۸). تنها آنتی‌بیوتیک‌هایی که در بیشتر ارزیابی‌ها در برابر این ایزوله‌ها مؤثر بوده‌اند از دسته پلی‌میکسین‌ها هستند که این آنتی‌بیوتیک‌ها نیز به‌دلیل عوارض جانبی بالا دارای محدودیت می‌باشند (۱۹).

در بررسی کنونی نیز مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در برابر ایزوله‌های آسینتوباکتر بومانی، کلیستین بود که تنها ۴ ایزوله (۷ درصد) به این آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند.

نتایج به‌دست آمده از بررسی پیش رو نیز نشان دهنده‌ی این بود که درصد بسیار بالایی از سویه‌های جدا شده در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه دارای مقاومت می‌باشند، به گونه‌ای که تمامی ایزوله‌ها در این مطالعه به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفوکسیتین، سفپیم، پیپراسیلین/ تازوباکتام، ازترونام، سیپروفلوکساسین و ایمیپنم مقاوم بودند.

در این مطالعه میزان مقاومت نسبت به ایمیپنم ۱۰۰ درصد گزارش گردید که این میزان بسیار بالاتر از مطالعات قبلی صورت پذیرفته بر روی این باکتری در نقاط دیگر ایران می‌باشد. در مطالعه صورت پذیرفته توسط خسروشاهی و شریفی در سال ۸۵-۸۴ بر روی ایزوله‌های بالینی آسینتوباکتر بومانی در شهر قزوین میزان مقاومت نسبت به ایمیپنم ۲۶/۶ درصد گزارش شد. در مطالعه صورت پذیرفته توسط هاشمی‌زاده و همکاران در سال ۸۷-۸۶ در شهر شیراز میزان مقاومت نسبت به ایمیپنم ۱۶/۳ درصد گزارش گردید (۲۰).

در مطالعه‌ای که توسط شاه‌چراغی و همکاران در سال ۸۷ بر روی ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از

Archive of SID

www.SID.ir

نمونه‌های گوناگون بالینی بیمارستان‌های منتخب در شهر تهران صورت پذیرفته است، میزان مقاومت نسبت به ایمیپنم ۶۸/۴ درصد گزارش گردید. میزان مقاومت نسبت به ایمیپنم در مطالعه صورت پذیرفته توسط پیمانی و همکاران در شهر تبریز در سال‌های ۸۸-۸۷، ۶۰ درصد گزارش گردید (۲۱).

بررسی مطالعات صورت پذیرفته نشان دهنده‌ی این موضوع است که با گذشت زمان میزان مقاومت نسبت به ایمیپنم در ایران رو به افزایش است. به طوری‌که این میزان از ۱۶/۳ درصد در سال ۸۷-۸۶ به‌میزان ۱۰۰ درصد در مطالعه حاضر (سال ۹۱-۹۰) رسیده است، که نشان دهنده‌ی این است که کاربا‌پنم‌ها جهت درمان آسینتوباکتر بومانی مناسب نمی‌باشند.

در مطالعه کنونی تمامی ۵۶ ایزوله دارای ژن کد کننده adeB،adeA بودند و فراوانی ژن کد کننده adeC در ایزوله‌ها ۹۶/۵ درصد بود. میزان فراوانی این ژن‌ها در مطالعات قبلی صورت پذیرفته بین ۵۳ تا ۹۷ درصد بوده است (۴-۲).

فراوانی بالای ژن‌های این پمپ در ایزوله‌های برگرفته از بیمارستان ولیعصر در مطالعه پیش رو نشان دهنده‌ی این مطلب است که یکی از مکانسیم‌های دخیل در ایجاد مقاومت بالای این ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و بتالاکتام‌ها پمپ تراوشی adeABC می‌باشد.

پمپ تراوشی adeABC از نیروی محرکه پروتونی جهت تراوش مواد ضدمیکروبی به محیط خارج از غشای سیتوپلاسمی استفاده می‌کند (۲ و ۴).

در این مطالعه از CCCP که جز ترکیبات مهار کننده پمپ تراوشی می‌باشد جهت بررسی نقش این پمپ در ایجاد مقاومت نسبت به ایمیپنم استفاده گردید.

حداقل غلظت بازدارنده ایمیپنم (MIC) در حضور این مهار کننده کاهشی نداشت. یافته‌های این بررسی در دیگر پژوهش‌ها بود که نشان دهنده‌ی این موضوع بودند که پمپ تراوشی adeABC در ایجاد مقاومت نسبت به کاربا‌پنم نقشی ندارد (۱۳، ۱۴ و ۲۲).

این موضوع نشان دهنده این است که دیگر مکانیسم‌های دخیل در ایجاد مقاومت نسبت به کاربا‌پنم‌ها از جمله آنزیم‌های کاربا‌پنمازی گروه D (مانند OXA23-OXA24-OXA51-OXA58)، متالوبتالاکتامازها (مانند IMP-VIM-SIM-GIM-NDM)، آنزیم AmpC به همراه کاهش در بیان پروتئین‌های غشای خارجی نقش مهم‌تری را در ایجاد مقاومت نسبت به کاربا‌پنم‌ها در ایزوله‌های مورد بررسی ایفا می‌کنند (۶، ۲۳ و ۲۴). بررسی این آنزیم‌ها در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی به‌دست آمده از این مطالعه نیاز به انجام مطالعات دیگری دارد.

با توجه به جداسازی ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی از بیماران بستری شده در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان ولیعصر و مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا در آن‌ها، لازم است که بررسی‌های بیشتری در زمینه یافتن منشاء و منبع آلودگی در محیط و تجهیزات قرار گرفته شده در این بخش‌ها صورت بپذیرد (۲۷). همچنین از محدودیت‌های این طرح نیز لزوم به‌کارگیری یک روش تایپینگ مانند روش میدان الکتروفورزی در میدان الکتریکی ضربان‌دار یا pulse field gel electrophoresis اشاره نمود تا بتواند ارتباط این ایزوله‌ها را با هم مشخص نماید.

سپاس و قدردانی

این پژوهش حاصل بخشی از پایان‌نامه دانشجویی آقای علیرضا ژاپونی‌نژاد می‌باشد. بدین‌وسیله از

Archive of SID
http://bpums.ac.ir
www.SID.ir

معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک بابت تأمین هزینه‌های مالی و کلیه کسانی که مجریان را در انجام این طرح یاری نمودند تشکر به‌عمل می‌آید.

References:

1.Lin Y-C, Sheng W-H, Chen Y-C, et al. Differences in carbapenem resistance genes among Acinetobacter baumannii Acinetobacter genospecies 3 and Acinetobacter genospecies 13TU in Taiwan. International journal of antimicrobial agents 2010;35:439-43.

2.Coyne S, Courvalin P, Périchon B. Efflux-mediated antibiotic resistance in Acinetobacter spp. Antimicrobial agents and chemotherapy 2011;55:947-53.

3.Coyne S, Rosenfeld N, Lambert T, et al.Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers multidrug resistance in Acinetobacter baumannii. Antimicrobial agents and chemotherapy 2010;54:4389-93.

4.Coyne S, Guigon G, Courvalin P, et al. Screening and quantification of the expression of antibiotic resistance genes in Acinetobacter baumannii with a microarray. Antimicrobial agents and chemotherapy 2010;54:333-40.

5.Damier-Piolle L, Magnet S, Brémont S, et al. AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in Acinetobacter baumannii. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2008;52:557-62.

6.Huang L, Sun L, Xu G, et al. Differential susceptibility to carbapenems due to the AdeABC efflux pump among nosocomial outbreak isolates of Acinetobacter baumannii in a Chinese hospital. Diagnostic microbiology and infectious disease 2008;62:326.

7.Schneiders T, Findlay J, Amyes SG. Efflux Pumps in Acinetobacter baumannii. Acinetobacter Biology and Pathogenesis 2008:105-27.

8.Rajamohan G, Srinivasan VB, Gebreyes WA. Novel role of Acinetobacter baumannii RND efflux transporters in mediating decreased susceptibility to biocides. Journal of Antimicrobial Chemotherapy(J Antimicrob Chemother) 2010;65:228-32.

9.Zechini B, Versace I. Inhibitors of multidrug resistant efflux systems in bacteria. Recent patents on anti-infective drug discovery 2009;4:37-50.

10.Nikaido H. Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. Journal of bacteriology (J Bacteriol)1996;178:5853.

11.Lin L, Ling B-D, Li X-Z. Distribution of the multidrug efflux pump genes, adeABC adeDE and adeIJK, and class 1 integron genes in multiple-antimicrobial-resistant clinical isolates of Acinetobacter baumannii–Acinetobacter calcoaceticus complex. International journal of antimicrobial agents 2009;33:27-32.

12.Pannek S, Higgins PG, Steinke P, et al. Multidrug efflux inhibition in Acinetobacter baumannii: comparison between 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine and phenyl-arginine-β-naphthylamide. Journal of Antimicrobial Chemotherapy(J Antimicrob Chemother) 2006;57:970-4.

13.Bou G, Cerveró G, Domínguez M, et al. Characterization of a Nosocomial Outbreak Caused by a Multiresistant Acinetobacter baumannii Strain with a Carbapenem-Hydrolyzing Enzyme: High-Level Carbapenem Resistance inA. baumannii Is Not Due Solely to the Presence of β-Lactamases. Journal of Clinical Microbiology 2000;38:3299-305.

14.Quale J, Bratu S, Landman D, et al.. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii endemic in New York City. Clinical Infectious Diseases 2003;37:214-20.

15.Hu WS, Yao S-M, Fung C-P, et al. An OXA-66/OXA-51-like carbapenemase and possibly an efflux pump are associated with resistance to imipenem in Acinetobacter baumannii. Antimicrobial agents and chemotherapy 2007;51:3844-52.

16.Lee Y, Yum JH, Kim C-K, et al. Role of OXA-23 and AdeABC efflux pump for acquiring carbapenem resistance in an Acinetobacter baumannii strain carrying the blaOXA-66 gene. Annals of Clinical & Laboratory Science 2010;40:43-8.

17.Clinical and L.S. Institute, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing,

Archive of SID

www.SID.ir

twenty first informational supplement M100-S21. 2011, CLSI Wayne, PA.

18.Ruiz M, Marti S, Fernandez Cuenca F, et al. Prevalence of ISAba1 in epidemiologically unrelated Acinetobacter baumannii clinical isolates. FEMS microbiology letters 2007;274:63-6.

19.Li J, Rayner CR, Nation RL, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrobial agents and chemotherapy 2006;50:2946-50.

20.Hashemizadeh Z, Bazargani A, Emami A, et al. Acinetobacter antibiotic resistance and frequency of ESBL-producing strains in ICU patients of Namazi Hospital (2008-2009). The Journal of Qazvin University of Medical Sciences(J Qazvin Univ Med Sci) 2010;14:47-53.

21.Peymani A, Nahaei M-R, Farajnia S, et al. High Prevalence of Metallo-b-Lactamase-Producing Acinetobacter baumannii in a Teaching Hospital in Tabriz, Iran. Jpn J Infect Dis 2011;64:69-71.

22.Pournaras S, Markogiannakis A, Ikonomidis A, et al. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. Journal of Antimicrobial Chemotherapy (J Antimicrob Chemother) 2006;57:557-61.

23.Qi C, Malczynski M, Parker M, et al. Characterization of genetic diversity of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii clinical strains collected from 2004 to 2007. Journal of Clinical Microbiology(J Clin Microbiol) 2008;46:1106-9.

24.Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: mechanisms of virulence and resistance. International journal of antimicrobial agents (Int J Antimicrob Agents)2010;35:219-26.

25.Vahdat K, Rezaee R, Gharibi O. Bacteriology of hospital-acquired infection and antibiotic resistance in a hospital university of Bushehr Port Fatemeh Zahra (s) in 2002-2003. ISMJ. 2005; 7(2) :135-140.

26.Zeki abbasi M, Bahtooie M, Vahdat K, Tavakolli M, Dalaki F. Antibiotic susceptibility of microorganisms of urinary tract infection in adult outpatients in Bushehr port. ISMJ. 2008; 10 (2) :153-158.

27.Japoni-Nejad A, Sofian M, van Belkum A, Ghaznavi-Rad E. Nosocomial Outbreak of Extensively Pan Drug-Resistant Acinetobacter baumannii in Tertiary Hospital in Central Part of Iran. Jundishapour journal of Microbilogy 2013;69(8): e9892

Archive of SID

www.SID.ir

ISMJ 2014; 17(5): 815-823

Original Article

Molecular detection of AdeABC efflux pump genes in clinical isolates of Acinetobacter baumannii and their contribution in imipenem resistance

AR. JaponiNejad [1,2], M. Sofian [3], E. Ghaznavi-Rad [2,4*]

[1] Student research committee, Arak University of Medical Sciences, Arak- IRAN
[2] Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Arak University Of Medical Sciences, Arak, IRAN
[3] Department of Infectious Disease, Arak University of Medical Sciences, Arak- IRAN
[4] Molecular research center, Faculty of medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak- IRAN

(Received 7 Mar, 2013 Accepted 25 Apr, 2013)

Abstract

Backgrand: Multi-drug resistance due to *Acinetobacter baumannii* strains has become a significant challenge. Efflux pump plays a vital role in the development of resistance in this bacteria. The aim of this study was to evaluate the frequency of the AdeABC efflux pump genes and its role in resistance to imipenem in clinical isolates of *A.baumannii.*

Materials and methods: A total of 56 isolates *of A.baumannii* were collected from different clinical specimens of Valiasr hospital in the Arak –Iran and all isolates were identified by standard biochemical tests. The Antimicrobial susceptibility patterns were determined by disk diffusion method and minimum inhibitory concentrations of imipenemin via E-test strips with and without CCCP efflux pump inhibitor were determined according to CLSI guidelines. The PCR test was used to detect the AdeABC efflux pump genes in isolates.

Results: All *A.bumannii* isolates were resistant to cefotaxim, ceftazidim, cefepim, cefoxitin, azteronam, piperacillin-tazobactam and ciprofloxacin, as well as all isolates were resistant to imipenem according to the results of the E-test method. Imipenem MIC with efflux pump inhibitor not reduced in all isolates and showed no differences in imipenem activity. The *adeA, adeB* and *adeC* genes were found in 100%, 100% and 96.5% of isolates, respectively.

Conclusion: AdeABC efflux system contributes to resistance to other antibiotics and resistance to imipenem has not been involved with this efflux system in *A.baumanni* isolates in current study and other mechanism such as carbapenemase enzymes play vital role to imipenem resistance in *A.baumanni* isolates.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, AdeABC efflux pump, resistance to imipenem

Address for correspondence: Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences
Email: e.ghaznavirad@arakmu.ac.ir

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir