

## مقاله اصلی

# جداسازی ژن های *tetC tetB tetA* از نمونه های *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده از نمونه های بیمارستانی با روش <sup>۱</sup>Multiplex PCR

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۵

### خلاصه

#### مقدمه

*اسیتوباکتر بومانی* باکتری گرم منفی که به صورت کوکسی و با کوکوباسیل دیده می شود. این باکتری فرصت طلب در عفونت های بیمارستانی نقش بسیار مهمی دارد. تتراسایکلین آنتی بیوتیک وسیع الطیفی است که رشد بسیاری از باکتری های گرم مثبت و منفی را مهار می کند. امروزه با فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های بیماری زا و خطر ایجاد سویه های بسیار مقاوم به درمان آنتی بیوتیکی پاسخ مناسب نمی دهند. هدف از این پژوهش تعیین میزان شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی و توزیع ژن های مقاوم به تتراسایکلین (*tetD, tetC, tetB, tetA*) در باکتری *اسیتوباکتر بومانی* جدا شده به روش Multiplex PCR و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن می باشد.

#### روش کار

در مطالعه حاضر که در سال ۱۳۹۶ در بیمارستان شهید افصلی پور کرمان انجام شده است، ایزوله های *اسیتوباکتر بومانی* از نمونه های بالینی جداسازی و سپس با استفاده از تست های باکتریولوژی و بیوشیمیایی، تعیین هویت شدند. تست آنتی بیوگرام با روش استاندارد CLSI تعیین گردید. با روش PCR حضور ژن های مقاوم به تتراسایکلین بررسی شد.

#### نتایج

بیشترین مقاومت در بین ایزوله های مقاوم به سیپروفلوکساسین بود. از تمامی ۶۰ ایزوله، شیوع ژن های *tetD* و *tetC tetB tetA* به ترتیب ۹۱/۶٪، ۹۱/۶٪، ۱۵٪ و ۰٪ بودند. بررسی اینکه ژن های مقاوم وجود دارند یا خیر مرتبط است با افزایش مقاومت میزان حساسیت کاهش یافته نسبت به بسیاری از گروه های آنتی بیوتیک وجود داشت.

#### نتیجه گیری

مکانیسم های مقاوم به تتراسایکلین از طریق کسب ژن *tet* با فعالیت پمپ های افلاکس، محافظت ریبوزومی و غیرفعال شدن آنزیمی است. با تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و استفاده از آنتی بیوتیک های مناسب، می توان از مقاومت آنتی بیوتیکی جلوگیری به عمل آورد و از انتشار سویه های مقاوم در جامعه در بین جمعیت های انسانی ممانعت کرد.

#### کلیدواژه ها

*اسیتوباکتر بومانی*، دیسک دیفیوژن، ژن های مقاوم تتراسایکلین، واکنش زنجیره ای پلیمرز چند گانه

**پی نوشت:** این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

الهام اسماعیل زاده آشین<sup>۱</sup>  
کیومرث امینی\*<sup>۲</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد سیرجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیرجان- ایران.  
۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.

\* گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی ساوه، ساوه، ایران.

تلفن: ۰۸۶۴۲۲۴۱۵۱۱

Email: dr\_kumarss\_amini@yahoo.com

<sup>۱</sup> Multiplex-polymerase chain reaction

## مقدمه

اسینتوباکتر جزء باکتری های گرم منفی، هوازی، غیر تخمیری که به صورت کوکسی یا کوکوباسیل هستند و قدرت تخمیر ندارند. این باکتری ها نیازمندی های غذایی کمی برای رشد داشته و می توانند در شرایط نامساعد، سطوح خشک و همچنین محیط آبی به مدت طولانی زنده بمانند. اسینتوباکتر بومانی به ندرت عامل عفونت های سخت در افراد با سطح ایمنی طبیعی می باشد، همچنین کمتر به عنوان فلور طبیعی بدن شخص سالم شناخته شده است. جنس *Acinetobacter* اولین بار در سال ۱۹۱۱ توسط بایرینک معرفی شد. طی چند دهه اخیر باکتری هایی که امروزه در جنس *Acinetobacter* قرار می گیرند (۱). اسینتوباکتر بومانی یک پاتوژن فرصت طلب در حال گسترش است که گروه های مختلفی از مردم، به ویژه بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه ICU را تحت تاثیر قرار می دهد. عفونت های ناشی از این باکتری شامل عفونت های مجاری ادراری، عفونت های زخم، مننژیت، اندوکاردیت، پریتونیت، عفونت پوست و بافت نرم می باشد. ریسک فاکتورهای متعدد مستعد کننده عفونت با این باکتری شامل بستری طولانی مدت در بیمارستان، نقص ایمنی، اعمال جراحی، تماس طولانی با بیماران کلونیزه شده، سوختگی، کهولت سن، مصرف عوامل آنتی باکتریال وسیع الطیف و وجود وسایل تهاجمی مثل کاتتر می باشند. درمان عفونت های ناشی از این باکتری به طور معمول شامل استفاده از بتالاکتام ها و فلوروکینولون ها می باشد که در سال های گذشته افزایش استفاده از این آنتی بیوتیک ها منجر به ظهور سویه های مقاوم شده است (۲). مقاومت آنتی بیوتیکی اسینتوباکتر بومانی به واسطه مکانیسم های اکتسابی و ذاتی است که این مکانیسم ها شامل تغییر آنزیمی، موتاسیون در ژن های هدف، تغییر نفوذ پذیری غشای خارجی و افزایش بیان ایفلاکس پمپ ها می باشد. عفونت با

سویه های مقاوم به چند دارو (MDR)، یعنی سویه هایی از اسینتوباکتر بومانی که به سه کلاس آنتی بیوتیکی رایج مقاوم باشند (۳) همچنین سویه هایی از اسینتوباکتر بومانی که علاوه بر مقاومت به سه کلاس آنتی بیوتیکی رایج، به ایمی پنم نیز مقاوم باشند، XDR2 گفته می شود، که مشکلات درمانی بسیاری ایجاد نموده است و سبب شده درمان عفونت های مربوط به این باکتری مشکل شده و همراه با افزایش طول مدت بستری و افزایش هزینه های درمانی، پیش آگهی نامطلوب و مرگ و میر بیشتری نسبت به سویه های حساس شود (۴). در گذشته از روش های فنوتیپی مثل سروتیپ، بیوتیپ، روش های آنزیمی و آنالیز پلاسمید استفاده می شد، اما امروزه روش های ژنوتیپی مانند PFGE، روش های مبتنی بر PCR مانند REP-PCR، PCR-RFLP، AP-PCR، Multiplex-PCR و غیره جایگزین روش های فنوتیپی شده اند (۵). در مطالعه حاضر به تعیین هویت مولکولی کلاس های مختلف ژن های مقاومت به تتراسایکلین در اسینتوباکتر بومانی جدا شده از خون، ترشحات تنفسی، ادرار، زخم پوست پرداخته می شود و از نظر میزان حضور کلاس های مختلف این ژن ها در اسینتوباکتر بومانی و کارایی روش نوین ملکولی وجود دارند. آگاهی از گونه های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به دارو دارای اهمیت فراوانی می باشد. جلوگیری از ضرر و زیان اقتصادی ناشی از بیماری اسینتوباکتر بومانی کنترل و پیشگیری از بیماری و استفاده از آن در جهت تشخیص آزمایشگاهی و در اپیدمیولوژی های سنگین ضرورت دارد که از یک روش سریع برای تشخیص به هنگام و دقیق سویه ها و پاتووارها در ارتباط با عامل بیماری زا استفاده شود. لذا این مطالعه باهدف جداسازی ژن های *tetC tetB tetA* اسینتوباکتر بومانی توسط Multiplex PCR انجام شد.

## روش کار

مطالعه حاضر در سال ۱۳۹۶ در بیمارستان شهید افضلی پور کرمان انجام شده است. نوع مطالعه توصیفی بوده و نمونه‌های اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های جمع‌آوری شده از خون، ترشحات تنفسی، ادرار، زخم پوست انجام گرفت. نمونه‌ها از بیمارانی که حداقل به مدت سه روز در بیمارستان بستری بوده و عفونت را در محیط بیمارستان کسب کرده بودند جمع‌آوری شد (۶-۷). کشت، جدا سازی و تأیید بیوشیمیایی جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی در محیط‌های مک کانکی (مرک، آلمان) و با تست‌های بیوشیمیایی صورت گرفت. DNA نمونه‌ها با کیت تجاری استخراج و انجام آزمایش PCR نمونه‌ها جهت شناسایی ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی و نیز انجام تست آنتی بیوگرام بر روی نمونه‌ها صورت پذیرفت (۹-۸). تعیین الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی به روش دیسک دیفیوژن

دیسک‌های آنتی بیوتیک: در این آزمایش از دیسک‌های آنتی بیوتیکی بر اساس استانداردهای CLSI ۲۰۱۱ استفاده شد. علاوه بر این انتخاب آنتی بیوتیک طبق مطالعه مقالات مختلف و

فراوانی استفاده از آن‌ها در بیمارستان‌ها صورت گرفت، این آنتی بیوتیک‌ها شامل آمپی سیلین (۱۰ μg)، تتراسایکلین (۱۰ μg)، تریمتوپریم/سولفامتوکسازول (۲۵ μg)، پیروفلوکساسین (۱۰ μg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ μg)، جنتامایسین (۱۰ μg)، استرپتومایسین (۱۰ μg) و کلرامفنیکل (۱۰ μg) می‌باشند. این آنتی بیوتیک‌ها از شرکت پادتن طب تهیه شد (۱۱-۱۰).

استخراج DNA: به منظور استخراج DNA باکتری از کیت استخراج DNA (کیت ذخایر مرکز ژنتیک ایران) استفاده شد. پس از جستجو در مقالات مختلف پرایمرهای مناسب برای ژن‌های tet انتخاب شدند. پرایمرها در سایت <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> مقایسه و بلاست شدند و به شرکت ماکروژن سفارش داده شد. پرایمرها توسط آب مقطر دیونیزه به غلظت ۱۰۰ پیکومول و سپس به غلظت مناسب که ۱۰ پیکومول بود، رسانده شدند. در جدول ۱ توالی پرایمر و طول قطعه تکثیری آورده شده است (۱۲).

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده Multiplex-PCR (۱۲)

پرایمر	توالی پرایمر (3' to 5')	ژن هدف	اندازه باند (bp)
tet(A)-f	GCT ACA TCC TGC TTG CCT TC	tet(A)	۲۱۰
tet(A)-r	CAT AGA TCG CCG TGA AGA GG	tet(A)	۲۱۰
tet(B)-f	TTG GTT AGG GGC AAG TTT TG	tet(B)	۶۵۹
tet(B)-r	GTA ATG GGC CAA TAA CAC CG	tet(B)	۶۵۹
tet(C)-f	CTT GAG AGC CTT CAA CCC AG	tet(C)	۴۱۸
tet(C)-r	ATG GTC GTC ATC TAC CTG CC	tet(C)	۴۱۸

tet(D)-f	AAA CCA TTA CGG CAT TCT GC	tet(D)	۷۸۷
tet(D)-r	GAC CGG ATA CAC CAT CCA TC	tet(D)	۷۸۷

اهمیت دارد و جهت جداسازی آن‌ها از دستگاه الکتروفورز استفاده می‌شود.

### نتایج

بررسی مقاومت‌های آنتی بیوتیکی: به منظور بررسی مقاومت‌های آنتی بیوتیکی سویه‌ها، آنتی بیوگرام با روش دیسک دیفیوژن انجام شد و میزان درصد حساسیت و مقاومت کلیه سویه‌ها به آنتی بیوتیک‌های مورد نظر مشخص شد. نتایج مقاومت نمونه‌ها برای هر آنتی بیوتیک در جدول ۲ قابل مشاهده است. این نتایج نشان داد که تمامی ایزوله‌ها به استرپتومایسین و نالیدکسیک اسید مقاوم بودند. در مرحله بعد بیشترین مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک تتراساکلین و میران مقاومت به تریمتوپریم-سولفامتاکسازول ۳/۵۸٪، کلرامفنیکل ۳/۴۸٪ بود. هیچ مقاومتی نسبت به سیپروفلوکساسین مشاهده نشد.

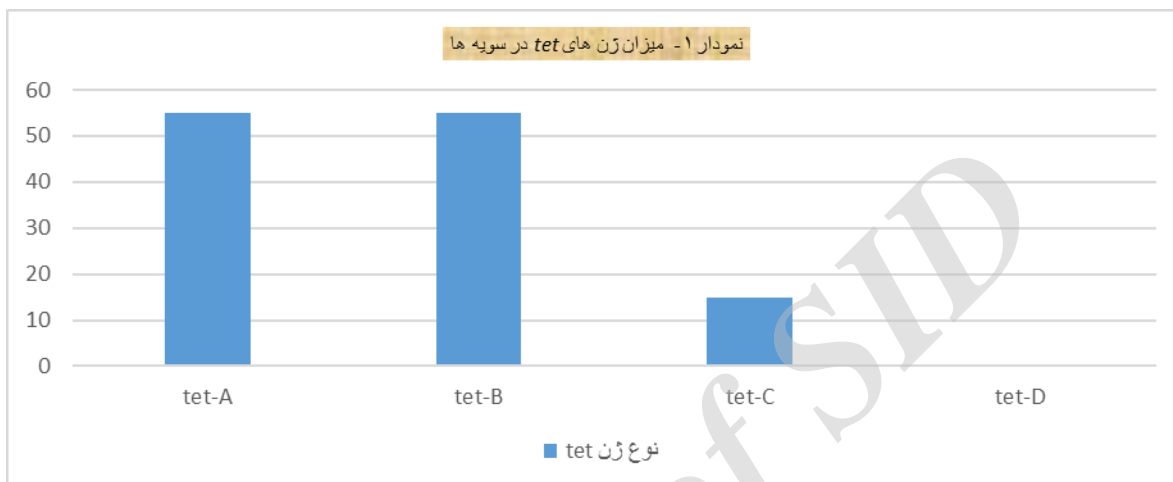
واکنش Multiplex PCR: مقادیر مواد PCR برای هر واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر PCR Master Mix 2x (Amplicon)، ۰/۸ میکرولیتر از هر کدام یک از پرایمرها با غلظت ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر و ۴ میکرولیتر از DNA الگو (۱۵۰ نانوگرم) بود. مراحل دمایی واکنش PCR بدین شکل انجام شد که ابتدا مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمر 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 پذیرفت. الکتروفورز محصولات PCR یا DNA با ژل آگاروز: برای الکتروفورز DNA از ژل آگاروز ۱/۵٪ استفاده می‌شود. قطعات DNA حاصل از استخراج یکسان نبوده و دارای طول‌های متفاوتی می‌باشند که اندازه قطعات ماده ژنتیکی

جدول ۲- نتایج آنتی بیوگرام نمونه‌های اسپینتوباکتر بومانی بر حسب تعداد و درصد

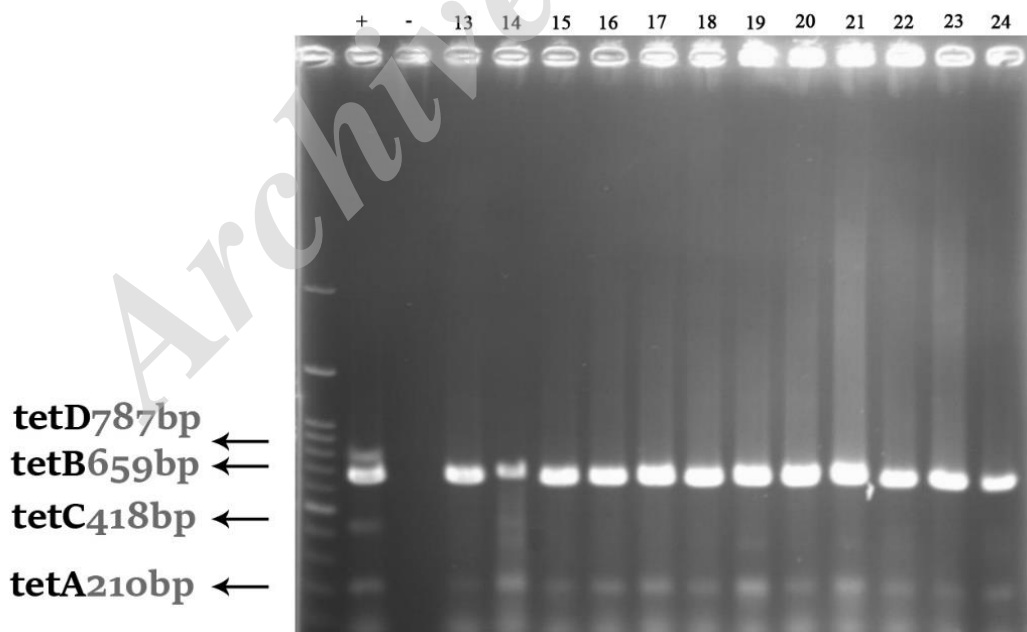
ماده ضد میکروبی	تعداد (%) سویه‌ها بر اساس تفسیر CLSI		
	S	I	R
تتراسایکلین	۲ (۳/۳)٪	۴ (۶/۶)٪	۵۴ (۹۰٪)
آمپی سیلین	۸ (۱۳/۳)٪	۱ (۱/۶)٪	۵۱ (۸۵٪)
تریمتوپریم-سولفامتاکسازول	۱۵ (۲۵٪)	۱۰ (۱۶/۶)٪	۳۵ (۵۸/۳)٪
استرپتومایسین	۰	۰	۶۰ (۱۰۰٪)
کلرامفنیکل	۲۴ (۴۰٪)	۷ (۱۱/۶)٪	۲۹ (۴۸/۳)٪
جنتامایسین	۱۰ (۱۶/۶)٪	۴ (۶/۶)٪	۴۶ (۷۶/۶)٪
سیپروفلوکساسین	۵۰ (۸۳/۳)٪	۱۰ (۱۶/۶)٪	۰ (۰٪)
نالیدکسیک اسید	۰ (۰٪)	۰ (۰٪)	۶۰ (۱۰۰٪)

واجد ژن tet-D بودند. نتایج در نمودار ۱ قابل مشاهده است. نتایج مربوط به PCR ژن های tet در شکل شماره ۱ آورده شده است.

نتایج آزمون Multiplex PCR: با توجه به نتایج بدست آمده از مجموع ۶۰ نمونه اسپینوباکتر، ۹۱/۶٪ از سویه ها ( ۵۵ سویه) واجد ژن tet-A ، ۹۱/۶٪ سویه ها (۵۵سویه) واجد ژن tet-B، ۱۵٪ سویه ها (۹ سویه) واجد ژن tet-C و ۰٪ سویه ها (۰ سویه)



نمودار ۱- میزان فراوانی ژن های مقاومت به تتراسایکلین در سویه ها



شکل ۱- نتیجه آزمایش M-PCR بر روی تعدادی از جدایه ها، به ترتیب از چپ به راست: مارکر DNA plus marker ۱۰۰ bp، + کنترل مثبت، - کنترل منفی، نمونه ها.

## بحث

اسینتوباکتر بومانی کوکوباسیل گرم منفی و عامل عفونت های مختلف بیمارستانی می باشد که در محیط بیمارستان پراکنده بوده و مدت زمان زیادی زنده می ماند و به راحتی در میان بیماران منتقل می گردد. امروزه به علت خاصیت کلینیکی قابل توجه آن در کسب مقاومت دارویی، به عنوان یکی از میکروارگانیسم های تهدید کننده نسبت به درمان با داروهای ضد میکروبی در نظر گرفته می شود. در بین باکتری های غیر تخمیری که به طور عمده از نمونه های انسانی جدا می شوند، اسینتوباکتر بومانی در رتبه دوم قرار دارند (سودوموناس در رتبه اول قرار دارد). از میان باکتری های جنس آسینتوباکتر، گونه های اسینتوباکتر بومانی (Acinetobacter baumannii) به طور عمده از نمونه های انسانی ایزوله می شوند (۱۳). آمار ارائه شده توسط مرکز کنترل و پیشگیری عفونت ها Centers for Disease Control and prevention (CDC) بومانی عامل ایجاد کننده ۲/۴٪ عفونت خون بیمارستانی در بخش های مراقبت ویژه، ۲/۱٪ عفونت زخم های جراحی، ۶/۹٪ از پنومونی های بیمارستانی و ۱/۶٪ از عفونت مجرای ادراری بیمارستانی در بیمارستان های امریکا بوده است. عفونت با آسینتوباکتر بومانی دارای عوارض جانبی کلینیکی بوده که شامل: طولانی شدن زمان بستری و افزایش هزینه های درمانی و مرگ و میر بالا می باشد (۱۴). در مطالعه ای که توسط Choi و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام شد میزان مرگ و میر در افرادی که مبتلا به عفونت با اسینتوباکتر بومانی بودند ۴۵/۴٪ گزارش شد. به دلیل اینکه ایزوله های کلینیکی اسینتوباکتر بومانی غالباً به اکثر مواد ضد میکروبی مورد استفاده در درمان مقاوم می باشند، شکست درمان و مرگ و میر در عفونت های ایجاد شده توسط این باکتری معمول است (۱۵). توکل مرضیه و همکاران، ۱۳۹۴ مطالعات زیادی در زمینه مقاومت اسینتوباکتر صورت گرفته از

جمله اینکه مطالعه توصیفی در دو بیمارستان شهر تهران بر روی ۱۲۱ ایزوله اسینتوباکتر بومانی جدا شده از عفونت های بالینی انجام شد. پس از شناسایی ایزوله ها با استفاده از روش های بیوشیمیایی، الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله ها به دو روش انتشار دیسک و روش مولکولی (برای ردیابی ژن های کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی) تعیین شد. از تعداد ۱۲۱ ایزوله اسینتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه های عفونی، بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک تتراسایکلین با فراوانی ۹۰/۹٪ و بیشترین حساسیت به آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، نیتروفوراتونین و مروپنم با فراوانی ۱/۶۵٪ مشاهده شد. فراوانی حضور ژن های tet, sul1, aac (3) - IV, tet (A), dfrA1, vim, sim, blaSHV, CITM, qnr, aadA1, (B), Oxa-51-like imp, Oxa-24-like, Oxa-58-like, Oxa-23-like, cmlA, cat1 به ترتیب ۷۹ (۶۵/۲٪)، ۷۱ (۵۸/۶٪)، ۶۸ (۵۶/۱٪)، ۶۷ (۵۵/۳٪)، ۴۴ (۳۶/۳٪)، ۴۱ (۳۳/۸٪)، ۲۹ (۲۳/۹٪)، ۲۸ (۲۳/۱٪)، ۲۴ (۱۹/۸٪)، ۱۷ (۱۴٪)، ۱۶ (۱۳۲/۲٪)، ۱۴ (۱۱/۵٪)، ۱۲ (۹/۹٪)، ۱۰ (۸/۲٪)، ۹ (۷/۴٪)، ۸ (۶/۶٪) و ۵ (۴/۱٪) بود (۷) که میزان ژن tet (A) تقریباً با نتایج این پژوهش تطابق دارد. و از طرفی افزایش فراوانی ژن tetA و tetB در این پژوهش نشان می دهد که مقاومت باکتری اسینتوباکتر در حال افزایش است که به سبب افزایش روز از افزون از تتراسایکلین می باشد. درمنش و همکاران در سال ۱۳۹۲، ۱۲۱ سویه اسینتوباکتر بومانی از نمونه های ادرار افراد مبتلا به پیلونفریت و التهاب مثانه را جمع آوری نمودند. مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها علیه ۱۰ آنتی بیوتیک رایج با استفاده از روش دیسک گذاری ساده ارزیابی گردید. فراوانی فاکتورهای حدت در موارد پیلونفریت، pap (100 %) afa (95 %) hly (5/97 %) (۹۵٪) و در موارد التهاب مثانه hly (6/63 %) afa (7/72 %) pap (۴۵/۴٪) بدست آمد.

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده و نتایج در گذشته مقاومت کمی به آنتی بیوتیک ها گزارش شده بود، اما امروزه به دلیل گسترش کاست های ژنی مقاوم در آن ها مقاومت به این آنتی بیوتیک ها به شدت افزایش یافته است. با توجه به اینکه ژن های مقاومت چندگانه می توانند بر روی اینتگرون ها قرار گیرند و به سویه های دیگر نیز منتقل شوند بنابراین شناسایی و غربالگری اینتگرون ها برای جلوگیری از به وجود آمدن سویه های دارای مقاومت چندگانه دارویی لازم و ضروری می باشد. همچنین با تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و استفاده از آنتی بیوتیک های مناسب در مواقعی که نیاز به درمان باشد نیز می توان از مقاومت آنتی بیوتیکی جلوگیری به عمل آورد و از انتشار سویه های مقاوم در جامعه در بین جمعیت های انسانی ممانعت کرد. جهت درمان قطعی و عدم بروز مقاومت های روزافزون در سویه ها پاتوژن، تعیین الگوی مقاومتی و حتی MIC آن ها برای پیگیری روند مقاومت ضروری است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی استخراج شده است و از کلبه عزیزان در گروه پژوهشی میکروب شناسی پاسارگاد و جناب آقای دکتر علیرضا مختاری صمیمانه قدردانی و تشکر می گردد.

ژن های مقاومت به جنتامایسین (۹۶/۷٪) و بتالاکتام ها (۸۸/۷٪) و تتراسایکلین (tet) (۸۲/۲٪) بیشترین فراوانی را در جدایه های باکتری داشتند (۱۶) و میزان درصد مقاومت به تتراساکلین تقریباً با نتایج این تحقیق تطابق دارد و تفاوت اندک موجود به علت منابع متفاوت سویه ها می باشد. در اکثر موارد به علت استفاده بی رویه و خودسرانه آنتی بیوتیک ها، شاهد موارد زیادی از مقاومت های دارویی در پاتوژن ها بوده که این خود سبب عدم موفقیت در درمان و پیدایش بسیاری از عوارض علی رغم صرف هزینه های زیاد درمانی می شود. مقاومت های دارویی نسبت به آنتی بیوتیک ها در مناطق مختلف ایران و جهان به دلیل تغییرات ژنتیکی در سویه های ایجاد کننده و تفاوت در میزان مصرف آنتی بیوتیک ها و وجود اختلاف در میزان دسترسی به آنتی بیوتیک های وسیع طیف و جدید متفاوت می باشند. مقاومت به آنتی بیوتیک ها (پنی سیلین و سفالوسپورین ها و کاربامپنم) در حال افزایش می باشند. گاهی اوقات باید یک میکروب را با مصرف همزمان چند آنتی بیوتیک درمان کرد و مصرف یک آنتی بیوتیک به تنهایی یا مصرف ناقص می تواند مقاومت ایجاد کند. بنابراین تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های بیماری زای شایع جهت هدایت درمان های امپریکال (تجربی) و اختصاصی علیه یک پاتوژن خاص، حایز اهمیت است (۱۷).

### References

- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. New York: Elsevier Health Sciences; 2015. P. 632-84.
- Nasonova E. Pulsed field gel electrophoresis: theory, instruments and applications. Tsitologiya 2008; 50:927-35.
- Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome mec (Sccmec) classification and typing methods: an overview. Pol J Microbiol 2011; 60:95-103.
- Fagon JY, Chastre J, Domart Y, Trouillet JL, Gibert C. Mortality due to ventilator-associated pneumonia or colonization with Pseudomonas or Acinetobacter species: assessment by quantitative culture of samples obtained by a protected specimen brush. Clin Infect Dis 1996; 23:538-42.
- Lim K, Hanifah YA, Yusof M, Thong KL. ermA, ermC, tetM and tetK are essential for erythromycin and tetracycline resistance among methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from a tertiary hospital in Malaysia. Ind J Med Microbiol 2012; 30:203-7.
- Gilan NR, Reshadat S, Ghasemi SR. The relationship between playing computer games and aggression in guidance school students of Kermanshah (2012). J Kermanshah Univ Med Sci 2013; 17:164-71.

7. Tavakol M, Momtaz H. Detection of the most prevalent antibiotic resistance genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from hospital infections and determination of their antibiotic resistance pattern. *Biol J Microorg* 2015; 4:71-82 (Persian).
8. Momtaz H, Khamesipour F, Tavakol M, Awosile B. Determination of antimicrobial resistance and resistant genes in *acinetobacter baumannii* from human clinical samples. *West Indian Med J* 2015; 66:1.
9. Tille P. Bailey & Scott's diagnostic microbiology-e-book. New York: Elsevier Health Sciences; 2013. P. 276-355.
10. Hombach M, Bloemberg GV, Böttger EC. Effects of clinical breakpoint changes in CLSI guidelines 2010/2011 and EUCAST guidelines 2011 on antibiotic susceptibility test reporting of Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother* 2011; 67:622-32.
11. Jorgensen JH, Turnidge JD. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *Manual of clinical microbiology*. 11<sup>th</sup> ed. New York: American Society of Microbiology; 2015. P. 1253-73.
12. Su HC, Ying GG, Tao R, Zhang RQ, Fogarty LR, Kolpin DW. Occurrence of antibiotic resistance and characterization of resistance genes and integrons in Enterobacteriaceae isolated from integrated fish farms in south China. *J Environ Monit* 2011; 13:3229-36.
13. Berlau J, Aucken H, Houang E, Pitt TL. Isolation of *Acinetobacter* spp including *A. baumannii* from vegetables: implications for hospital-acquired infections. *J Hosp Infect* 1999; 42:201-4.
14. Durante-Mangoni E, Zarrilli R. Global spread of drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: molecular epidemiology and management of antimicrobial resistance. *Future Microbiol* 2011; 6:407-22.
15. Choi CH, Lee EY, Lee YC, Park TI, Kim HJ, Hyun SH, et al. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. *Cell Microbiol* 2005; 7:1127-38.
16. Dormanesh B, Mirnejad R, Khodaverdi Dariyan E, Momtaz H, Yahaghi E, Safarpour Dehkordi F, et al. Characterization and study the antibiotic resistance of Uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pediatrics with pyelonephritis and cystitis in Iran. *Iran J Med Microbiol* 2013; 7:27-39 (Persian).
17. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents* 2015; 45:568-85.

Archive SID



## Original Article

### Isolation of *tetD*, *tetC*, *tetB*, *tetA* genes from *Acinetobacter bummani* samples isolated from hospital samples by multiplex PCR method

Received: 23/10/2017 - Accepted: 05/01/2018

Esmailzadeh Ashini Elham<sup>1</sup>  
Amini kumarss<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>-Department of Microbiology, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran.

<sup>2</sup>-Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

\* Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran.

Tel: 08642241511

Email: dr\_kumarss\_amini@yahoo.com

#### Abstract

**Introduction:** *Acinetobacter* is a gram negative bacterium seen as cocci or cocobacilli. This opportunistic bacterium plays a very important role in hospital infections. Tetracycline is a broad-spectrum antibiotic that inhibits the growth of many gram-positive and negative bacteria. Today, antibiotic resistance is not responding to the frequency of pathogenic bacteria and the risk of antibiotic resistant strains. The aim of this study was to determine the prevalence of antibiotic resistance and the distribution of tetracycline (*tetD*, *tetC*, *tetB*, *tetA*) genes in *Acinetobacter bummani* and antibiotic resistance Disc diffusion.

**Subjects & Methods:** *Acinetobacter bummani* were isolated from clinical specimens and then identified by using bacteriological and biochemical tests. An antibiotic test was performed using CLSI standard method. By the PCR method, was investigated the presence of tetracycline resistance genes.

**Results:** The highest resistance to acinetobacter isolates was resistance to ciprofloxacin. Out of 60 isolates of acinetobacter, the prevalence of *tetA*, *tetB*, *tetC* and *tetD* genes was 91.6, 91.6, 15, and 0%, respectively. This study concludes that resistance genes are present whether or not resistance genes are susceptible to many antibiotic groups.

**Conclusion:** The main mechanisms for resistance to tetracycline are through the acquisition of the tet gene with the activity of the phallus pumps, ribosomal protection and enzymatic inactivation. An antibiotic resistance can be prevented by identifying antibiotic resistance patterns and using appropriate antibiotics when there is a need for treatment and preventing the release of resistant strains in the community among human populations.

**Keywords:** *Acinetobacter*, Disc diffusion, Tetracycline resistance genes, multiple polymerase chain reaction

**Acknowledgement:** There is no conflict of interest.