www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 60, No.6 P: 734-742
Jan-Feb 2018

مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۰، شماره ۶
بهمن – اسفند۹۶، صفحه ۷۳۴-۷۴۲

مقاله اصلی

جداسازی ژن‌های *tetA*، *tetB*، *tetC* از نمونه‌های *استیتوباکتر بومانی* جدا شده از نمونه‌های بیمارستانی با روش Multiplex PCR[1]

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

الهام اسماعیل‌زاده آشینی[۱]
کیومرث امینی*[۲]

۱-دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، 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

خلاصه

مقدمه

استیتوباکتر بومانی باکتری گرم منفی که به صورت کوکسی و یا کوکوباسیل دیده می‌شود. این باکتری فرصت طلب در عفونت‌های بیمارستانی نقش بسیار مهمی دارد. تتراسایکلین آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیفی است که رشد بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و منفی را مهار می‌کند. امروزه با فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری‌های بیماری‌زا و خطر ایجاد سویه‌های بسیار مقاوم به درمان آنتی بیوتیکی پاسخ مناسب نمی‌دهند. هدف ازاین پژوهش تعیین میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی وتوزیع ژن‌های مقاوم به تتراسایکلین (*tetD, tetC, tetB, tetA*) درباکتری *استیتوباکتر بومانی* جداشده به روش Multiplex PCR و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن می‌باشد.

روش کار

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

نتایج

بیشترین مقاومت در بین ایزوله‌های مقاومت به سیپروفلوکساسین بود. از تمامی۶۰ ایزوله، شیوع ژن‌های *tetA*،*tetB*،*tetC* و *tetD* به ترتیب۹۱/۶٪، ۹۱/۶٪، ۱۵٪ و ۰٪ بودند. بررسی اینکه ژن‌های مقاومت وجود دارند یا خیر مرتبط است با افزایش مقاومت میزان حساسیت کاهش یافته نسبت به بسیاری از گروه‌های آنتی بیوتیک وجود داشت.

نتیجه‌گیری

مکانیسم‌های مقاومت به تتراسایکلین از طریق کسب ژن *tet* با فعالیت پمپ‌های افلاکس، محافظت ریبوزومی و غیرفعال شدن آنزیمی است. با تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مناسب، می‌توان از مقاومت آنتی‌بیوتیکی جلوگیری به عمل آورد و از انتشار سویه‌های مقاوم در جامعه در بین جمعیت‌های انسانی ممانعت کرد.

کلیدواژه ها

استیتوباکتر بومانی، دیسک دیفیوژن، ژن‌های مقاومت تتراسایکلین، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه

پی‌نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

[1] Multiplex-polymerase chain reaction

مقدمه

اسینتوباکتر جزء باکتری‌های گرم منفی، هوازی، غیرتخمیری که به صورت کوکسی یا کوکوباسیل هستند و قدرت تخمیر ندارند. این باکتری‌ها نیازمندی‌های غذایی کمی برای رشد داشته و می‌توانند در شرایط نامساعد، سطوح خشک و همچنین محیط آبی به مدت طولانی زنده بمانند. اسینتوباکتر بومانی به ندرت عامل عفونت‌های سخت در افراد با سطح ایمنی طبیعی می‌باشد، 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 باکتری‌هایی که امروزه در جنس Acinetobacter قرار می‌گیرند (۱). *اسینتوباکتر بومانی* یک پاتوژن فرصت طلب درحال گسترش است که گروه‌های مختلفی از مردم، به ویژه بیماران بستری دربخش مراقبت‌های ویژه ICU را تحت تاثیر قرار می‌دهد. عفونت‌های ناشی از این باکتری شامل عفونت‌های مجاری ادراری، عفونت‌های زخم، مننژیت، اندوکاردیت، پریتونیت، عفونت پوست و بافت نرم می‌باشد. 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 می‌باشند. درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری به طور معمول شامل استفاده از بتالاکتام‌ها و فلوروکینولون‌ها می‌باشد که در سال‌های گذشته افزایش استفاده از این آنتی بیوتیک‌ها منجر به ظهور سویه‌های مقاوم شده است (۲). مقاومت آنتی بیوتیکی *اسینتوباکتر بومانی* به واسطه مکانیسم‌های اکتسابی و ذاتی است که این مکانیسم‌ها شامل تغییر آنزیمی، موتاسیون در ژن‌های هدف، تغییر نفوذ پذیری غشای خارجی و افزایش بیان ایفلاکس پمپ‌ها می‌باشد. عفونت با سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR)، یعنی سویه‌هایی از اسینتوباکتر بومانی که به سه کلاس آنتی بیوتیکی رایج مقاوم باشند (۳) همچنین سویه‌هایی از *اسینتوباکتر بومانی* که علاوه بر مقاومت به سه کلاس آنتی بیوتیکی رایج، به ایمی پنم نیز مقاوم باشند، XDR2 گفته می‌شود، که مشکلات درمانی بسیاری ایجاد نموده است و سبب شده درمان عفونت‌های مربوط به این باکتری مشکل شده و همراه با افزایش طول مدت بستری و افزایش هزینه‌های درمانی، پیش آگهی نامطلوب و مرگ و میر بیشتری نسبت به سویه‌های حساس شود (۴). در گذشته از روش‌های فنوتیپی مثل سروتیپ، بیوتیپ، روش‌های برش آنزیمی و آنالیز پلاسمید استفاده می‌شد، اما امروزه روش‌های ژنوتیپی مانند PFGE، روش‌های مبتنی بر PCR مانند REP-PCR، PCR-RFLP، AP-PCR، Multiplex-PCR و غیره جایگزین روش‌های فنوتیپی شده‌اند (۵). در مطالعه حاضر به تعیین هویت مولکولی کلاس‌های مختلف ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین در اسینتوباکتر بومانی جدا شده از خون، ترشحات تنفسی، ادرار، زخم پوست پرداخته می‌شود و از نظر میزان حضور کلاس‌های مختلف این ژن‌ها در اسینتوباکتر بومانی وکارایی روش نوین ملکولی وجود دارند. آگاهی از گونه‌های *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به دارو دارای اهمیت فراوانی می‌باشد. 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 اپیدمیولوژی‌های سنگین ضرورت دارد که از یک روش سریع برای تشخیص به هنگام و دقیق سویه‌ها و پاتووارها در ارتباط با عامل بیماری‌زا استفاده شود. لذا این مطالعه باهدف جداسازی ژن‌های *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 مک‌کانکی (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(µg ۱۰)، تتراسایکلین(µg ۱۰)،تریمتوپریم/سولفامتوکسازول(۲۵µg)، پیپروفلوکساسین(µg ۳۰)، نالیدیکسیک اسید(µg ۳۰)، جنتامایسین(۱۰µg)، استرپتومایسین (µg ۱۰)و کلرامفنیکل(µg ۱۰) 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 ۱۰پیکومول بود، رسانده شدند. در جدول ۱ توالی پرایمر و طول قطعه تکثیری آورده شده است (۱۲).

جدول۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده Multiplex-PCR (۱۲)

پرایمر	توالی پرایمر (5’ to 3’)	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)*	٦٥٩
tet(B)-r	GTA ATG GGC CAA TAA CAC CG	*tet(B)*	٦٥٩
tet(C)-f	CTT GAG AGC CTT CAA CCC AG	*tet(C)*	٤١٨
tet(C)-r	ATG GTC GTC ATC TAC CTG CC	*tet(C)*	٤١٨

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

واکنش Multiplex PCR : مقادیر مواد PCR برای هر واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر PCR Master Mix 2x (Amplicon)، ۰/۸میکرولیتر از هرکدام یک از پرایمر ها 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 اهمیت دارد و جهت جداسازی آن‌ها از دستگاه الکتروفورز استفاده می‌شود.

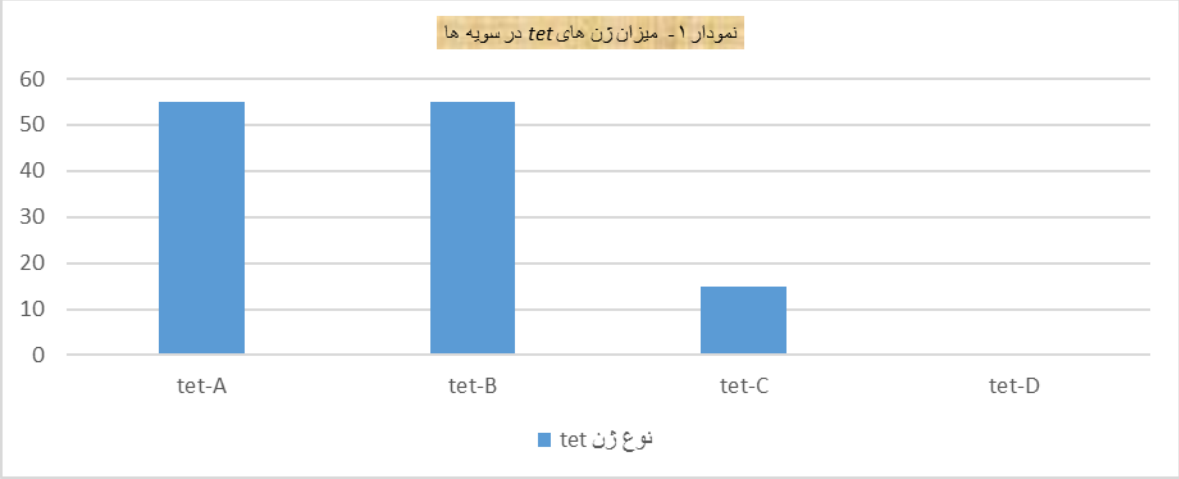
نتایج

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 تریمتوپریم‌سولفامتاکسازول ۵۸/۳٪، کلرامفنیکل ۴۸/۳٪ بود. هیچ مقاومتی نسبت به سیپروفلوکساسین مشاهده نشد.

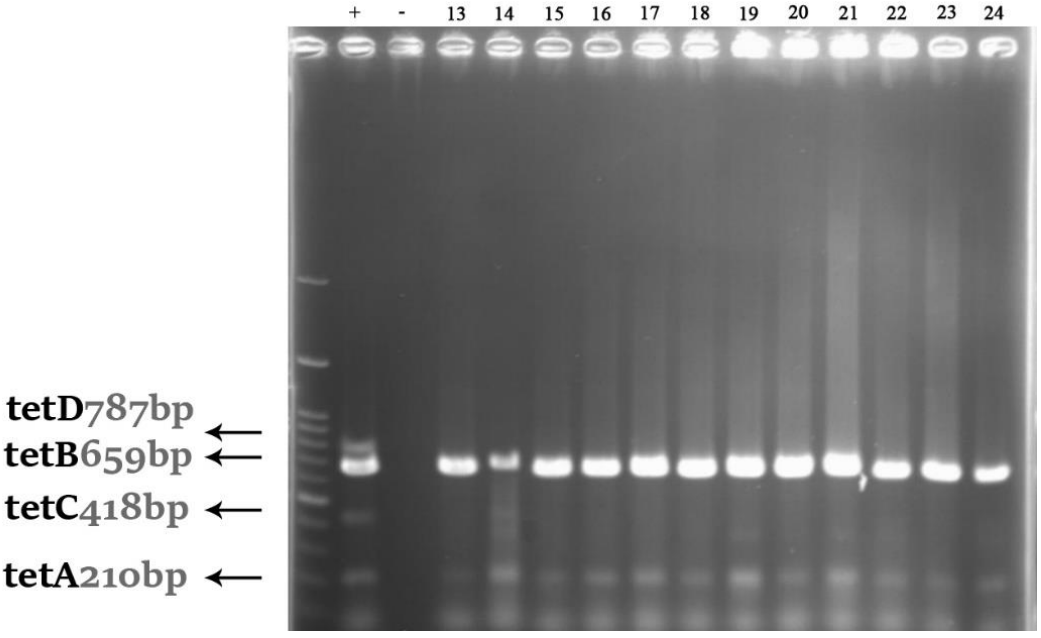
جدول ۲- نتایج آنتی بیوگرام نمونه‌های *اسینتوباکتر بومانی* بر حسب تعداد و درصد

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

نتایج آزمون Multiplex PCR : با توجه به نتایج بدست آمده از مجوع ۶۰ نمونه استینوباکتر، ۹۱/۶ ٪ از سویه‌ها (۵۵ سویه) واجد ژن tet-A ، ۹۱/۶ ٪ سویه‌ها (۵۵سویه) واجد ژن tet-B، ۱۵٪ سویه‌ها (۹ سویه) واجد ژن tet-C و ۰٪ سویه‌ها (۰ سویه) واجد ژن tet-D بودند. نتایج در نمودار ۱ قابل مشاهده است. نتایج مربوط به PCR ژن‌های tet در شکل شماره ۱ آورده شده است.



نمودار ۱- میزان فراوانی ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین در سویه‌ها



شکل ۱- نتیجه آزمایش M-PCR بر روی تعدادی از جدایه‌ها، به ترتیب از چپ به راست: مارکر bp DNA pluse marker ۱۰۰، + کنترل مثبت، - کنترل منفی، نمونه‌ها.

بحث

اسینتوباکتر بومانی کوکوباسیل گرم منفی و عامل عفونت‌های مختلف بیمارستانی می‌باشد که در محیط بیمارستان پراکنده بوده و مدت زمان زیادی زنده می‌ماند و به راحتی در میان بیماران منتقل می‌گردد. امروزه به علت خاصیت کلینیکی قابل توجه آن در کسب مقاومت داروئی، به عنوان یکی از میکروارگانیسم‌های تهدید کننده نسبت به درمان با داروهای ضد میکروبی در نظر گرفته می‌شود. در بین باکتری‌های غیر تخمیری که به طور عمده از نمونه‌های انسانی جدا می‌شوند، *اسینتوباکتر بومانی* در رتبه دوم قرار دارند (سودوموناس در رتبه اول قرار دارد). از میان باکتری‌های جنس آسینتوباکتر، گونه‌های *اسینتوباکتر بومانی* (Acinetobacter baumannii)به طور عمده از نمونه‌های انسانی ایزوله می‌شوند (۱۳). آمار ارائه شده توسط مرکز کنترل و پیشگیری عفونت‌ها Centers for Disease Control and prevention (CDC)نشان می‌دهد که *اسینتوباکتر بومانی* عامل ایجاد کننده‌ی ۲/۴٪ عفونت خون بیمارستانی در بخش‌های مراقبت ویژه، ۲/۱٪ عفونت زخم‌های جراحی، ۶/۹٪ از پنومونی‌های بیمارستانی و ۱/۶٪ از عفونت مجرای ادراری بیمارستانی در بیمارستان‌های امریکا بوده است. عفونت با آسینتوباکتر بومانی دارای عوارض جانبی کلینیکی بوده که شامل: طولانی شدن زمان بستری و افزایش هزینه‌های درمانی و مرگ و میر بالا می‌باشد (۱۴). در مطالعه‌ای 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 ایزوله‌های کلینیکی *اسینتوباکتر بومانی* غالبا به اکثر مواد ضد میکروبی مورد استفاده در درمان مقاوم می‌باشند، شکست درمان و مرگ و میر در عفونت‌های ایجاد شده توسط این باکتری معمول است (۱۵). توکل مرضیه و همکاران،۱۳۹۴ مطالعات زیادی در زمینه مقاومت استینوباکتر صورت گرفته از جمله اینکه مطالعه توصیفی در دو بیمارستان شهر تهران بر روی ۱۲۱ ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از عفونت‌های بالینی انجام شد. پس از شناسایی ایزوله‌ها با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی، الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها به دو روش انتشار دیسک و روش مولکولی (برای ردیابی ژن‌های کد کننده مقاومت آنتی بیوتیکی) تعیین شد. از تعداد ۱۲۱ ایزوله *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از نمونه‌های عفونی، بیش‌ترین مقاومت به آنتی بیوتیک تتراسایکلین با فراوانی ۹۰/۹٪ و بیش‌ترین حساسیت به آنتی بیوتیک‌های کلرامفنیکل، نیتروفورانتوئین و مروپنم با فراوانی ۱/۶۵ ٪ مشاهده شد. فراوانی حضور ژن‌های dfrA1، tet (A)، aac (3) - IV، sul1، tet (B)، aadA1، qnr،CITM، blaSHV، sim، vim، Oxa-58-like، Oxa-24-like، imp، Oxa-51-like، Oxa-23-like، cat1، cmlA 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٪)، ۵(۴/۱٪) و ۳ (۲/۴ ٪) بود (۷) که میزان ژن tet (A) تقریبا با نتایج این پژوهش تطابق دارد. و از طرفی افزایش فراوانی ژن tetA و tetB در این پژوهش نشان می‌دهد که مقاومت باکتری اسینتوباکتر در حال افزایش است که به سبب افزایش روز از افزون از تتراسایکلین می‌باشد. درمنش و همکاران در سال ۱۳۹۲ ، ۱۲۱ سویه *اسینتوباکتر بومانی* از نمونه‌های ادرار افراد مبتلا به پیلونفریت و التهاب مثانه را جمع آوری نمودند. مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌ها علیه ۱۰ آنتی بیوتیک رایج با استفاده از روش دیسک گذاری ساده ارزیابی گردید. فراوانی فاکتورهای حدت در موارد پیلونفریت، pap (100 %) afa (5/97 %) hly (95 %) sfa (۹۵ ٪) و در موارد التهاب مثانه pap (7/72 %) afa (6/63 %) hly (۴۵/۴ ٪) بدست آمد.

ژن‌های مقاومت به جنتامایسین (۹۶/۷ ٪) و بتالاکتام ها (۸۸/۷ ٪) و تتراسایکلین (tet) (۸۲/۲ ٪) بیشترین فراوانی را در جدایه‌های باکتری داشتند (۱۶) و میزان درصد مقاومت به تتراساکلین تقریبا با نتایج این تحقیق تطابق دارد و تفاوت‌اندک موجود به علت منابع متفاوت سویه‌ها می‌باشد. در اکثر موارد به علت استفاده بی رویه و خودسرانه آنتی بیوتیک‌ها، شاهد موارد زیادی از مقاومت‌های داروئی در پاتوژن‌ها بوده که این خود سبب عدم موفقیت در درمان و پیدایش بسیاری از عوارض علی رغم صرف هزینه‌های زیاد درمانی می‌شود. مقاومت‌های داروئی نسبت به آنتی بیوتیک‌ها در مناطق مختلف ایران و جهان به دلیل تغییرات ژنتیکی در سویه‌های ایجاد کننده و تفاوت در میزان مصرف آنتی بیوتیک‌ها و وجود اختلاف در میزان دسترسی به‌آنتی بیوتیک‌های وسیع طیف و جدید متفاوت می‌باشند. مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها (پنی سیلین و سفالوسپورین ها و کارباپنم) در حال افزایش می‌باشند. گاهی اوقات باید یک میکروب را با مصرف همزمان چند آنتی بیوتیک درمان کرد ومصرف یک آنتی بیوتیک به تنهایی یا مصرف ناقص می‌تواند مقاومت ایجاد کند. بنابراین تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی درباکتری‌های بیماری زای شایع جهت هدایت درمان های امپریکال (تجربی) و اختصاصی علیه یک پاتوژن خاص، حایز اهمیت است (۱۷).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده و نتایج در گذشته مقاومت کمی به آنتی بیوتیک‌ها گزارش شده بود، اما امروزه به دلیل گسترش کاست‌های ژنی مقاوم در آن‌ها مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها به شدت افزایش یافته است. با توجه به اینکه ژن‌های مقاومت چندگانه می‌توانند بر روی اینتگرون‌ها قرار گیرند و به سویه‌های دیگر نیز منتقل شوند بنابراین شناسایی و غربالگری اینتگرون‌ها برای جلوگیری از به وجود آمدن سویه‌های دارای مقاومت چندگانه دارویی لازم و ضروری می‌باشد. همچنین با تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و استفاده از آنتی بیوتیک‌های مناسب در مواقعی که نیاز به درمان باشد نیز می‌توان از مقاومت آنتی بیوتیکی جلوگیری به عمل آورد و از انتشار سویه‌های مقاوم در جامعه در بین جمعیت‌های انسانی ممانعت کرد. جهت درمان قطعی و عدم بروز مقاومت‌های روزافزون در سویه‌ها پاتوژن، تعیین الگوی مقاومتی و حتی MIC آن‌ها برای پیگیری روند مقاومت ضروری است.

تشکر و قدردانی

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

References

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. New York: Elsevier Health Sciences; 2015. P. 632-84.
2. Nasonova E. Pulsed field gel electrophoresis: theory, instruments and applications. Tsitologiia 2008; 50:927-35.
3. Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome mec (Sccmec) classification and typing methods: an overview. Pol J Microbiol 2011; 60:95-103.
4. 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.
5. 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.
6. 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. 11th 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.

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

Esmaeilzadeh Ashini Elham[1]
Amini kumarss[2]*

1- Department of Microbiology, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran.
2-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.*