بررسی وجود ژن‌های پمپ افلاکس AdeABC در ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بامانی با مقاومت چندگانه دارویی

- **شاهین زایری**: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **فاطمه نوربخش***: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **فهیمه باغبانی‌آرانی**: گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ دریافت: آبان ١٣٩٦ تاریخ پذیرش: بهمن ١٣٩٦

چکیده

اسینتوباکتر بومانی به‌دلیل پتانسیل بالا در کسب عوامل مقاومت به دامنه وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها، یکی از اصلی‌ترین باکتری‌های با مقاومت چندگانه دارویی است. مکانیسم‌های مختلفی برای بروز مقاومت چندگانه دارویی در اسینتوباکتر بومانی وجود دارد که شامل پمپ‌های تراوشی یا افلاکس، بتالاکتاماز، اینتگرون‌ها، عناصر افزایشی و پروتئین‌های ساختاری می‌باشند. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی ژن‌های پمپ افلاکس در ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی با مقاومت چندگانه دارویی می‌باشد. ٧٩ سویه اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌های بالینی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان قلب تهران جدا شده و با آزمون‌های بیوشیمیایی تشخیص داده شدند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش انتشار دیسک براساس استاندارد CLSI ٢٠١٥ تعیین شد. سپس استخراج DNA انجام شد و حضور ژن‌های adeA، adeB وadeC با استفاده از PCR بررسی شد. میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، سفتازیدیم، سیپروفلوکسازین، مروپنم، ایمی‌پنم، تتراسایکین و تری‌متوپریم به‌ترتیب ٨٣/٧٥، ٨٦/٢٥، ٨٢/٥، ٨٦/٢٥، ٩١/٢٥، ٥٨/٧٥، ٩٣/٧٥ درصد بود. فراوانی ژن‌های adeA، adeB ٩٦/٢٪ وفراوانیadeC ٩١/١٪ گزارش شد. ارتباط معنی‌داری بین مقاومت به ایمی‌پنم، مروپنم با فراوانی ژن‌ها وجود داشت. با توجه به شیوع بالای ژن‌های پمپ افلاکس AdeABC ممکن است این امر یک نقش مهم در مقاومت ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی به‌ویژه مقاومت به ایمی‌پنم، مروپنم و تری‌متوپریم ایفا کند. اگرچه باید به نقش بیان ژن‌های پمپ افلاکس در بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی توجه کرد.

کلمات کلیدی: اسینتوباکتر بامانی، پمپ افلاکس، ژن‌های adeABC، مقاومت آنتی‌بیوتیک

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:niloofar_noorbakhsh@yahoo.com

مقدمه

اسینتوباکتر بومانی پاتوژن بسیار مهم بیمارستانی است و به‌دلیل ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مشکلات فراوانی را در درمان بیماران ایجاد کرده است به این دلیل کنترل عفونت ایجاد شده توسط این باکتری بسیار مشکل است. اسینتوباکتربومانی پاتوژن فرصت‌طلب می‌باشد که از نظر شکل متنوع بوده(پلی‌مورف)ودرمحیط‌های مختلف قادر به زندگی است و یکی از مهم‌ترین باکتری‌هایی است که دارای مقاومت چندگانه دارویی (Multiple drug resistance) است. مکانیسم‌های مختلفی در بروز سویه‌های MDR دخالت دارند(Su و همکاران، ۲۰۱۲). از مهم‌ترین این مکانیسم‌ها پمپ‌های تراوشی یا افلاکس می‌باشد. اولین‌بار مقاومت چندگانه پمپ افلاکس توسط جولیانو و لینگ توصیف گردید. این پمپ که وابسته به هیدرولیز ATP بوده سبب ایجاد مقاومت نسبت به طیف گسترده‌ای از ترکیبات ازجمله عوامل شیمی‌درمانی مورداستفاده جهت درمان سرطان می‌شود (Ambudkar و همکاران، ۱۹۹۹). در دهه‌های اخیر مقاومت چندگانه به‌واسطه پمپ‌های افلاکس به‌طور گسترده‌ای گزارش شده است(Vila و همکاران، ۲۰۰۷؛ Nikaido، ۱۹۹۴). برخلاف سایر ژن‌های مقاومتی که توسط پلاسمید کد می‌شوند و مقاومت به یک آنتی‌بیوتیک ویژه را ایجاد می‌کنند، ژن‌های پمپ‌های افلاکس در تمام موجودات زنده وجود دارند و مقاومت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها را موجب می‌گردد (Katsaragakis و همکاران، ۲۰۰۸). پمپ‌های افلاکس آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها از نظر فیلوژنی به پنج خانواده بزرگ تعلق دارند (Pulsen و Lewis، ۲۰۰۱). اکنون بیش از ۵۰ سیستم افلاکس دارویی در باکتری‌ها شناسایی شده است. خصوصیت مشترک همه سیستم‌های افلاکس، توانایی دفع انواع مواد ضدمیکروبی نظیر آنتی‌بیوتیک‌ها، بیوسایدها، رنگ‌ها، پاک‌کننده‌ها، اسیدهای چرب و حلال‌های آلی می‌باشد. امروزه پمپ‌های افلاکس فعال به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت ذاتی و اکتسابی آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها مطرح شده‌اند (Chopra و Roberts، ۲۰۰۱). از بین خانواده‌های مطرح‌شده از پمپ‌های افلاکس، پمپ‌های خانواده RND (Resistant nodulation divition) و MATE (Multidrug and toxic efflux) در اسینتوباکتر بامانی پمپ‌های افلاکس چندداروییی می‌باشند. مهم‌ترین پمپ افلاکس اسینتوباکتر بامانی پمپ AdeABC است (Lubelski و همکاران، ۲۰۰۷؛ Hujer و همکاران، ۲۰۰۶). AdeABC یکی از مهم‌ترین سیستم افلاکس متعلق به خانواده RND می‌باشد. ژن‌های پمپ افلاکس AdeABC بر روی کروموزوم باکتری قرار دارند و سه ژن adeA ,adeB ,adeC در مجاورت هم یک اپرون را تشکیل می‌دهند. AdeB یک پروتئین ترانسپورتر می‌باشد، درحالی‌که AdeA و AdeC به‌ترتیب یک پروتئین فیوژن غشایی و یک پروتئین غشا خارجی می‌باشند. بیان adeABC توسط یک سیستم دو جزئی مشتمل بر تنظیم‌کننده پاسخ (Response regulator AdeR) و یک کیناز حسگر (Sensor kinase,AdeS) انجام می‌شود (Murray و Baron، ۲۰۱۰). آنتی‌بیوتیک‌های متعددی ازجمله آمینوگلیکوزیدها، تتراسایکلین، فلوروکینولون‌ها، تری‌متوپریم و کلرامفنیکل به‌عنوان سوبسترای این سیستم مطرح شده‌اند (Hartzell و همکاران، ۲۰۰۷). آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان سوبسترای پمپ AdeABC می‌توانند بیان ژن‌های AdeABC را افزایش دهند که به‌نوبه‌خود منجر به بروز مقاومت چندداروییی می‌شود (Hartzell و همکاران، ۲۰۰۷). در آسینتوباکتر بامانی مقاومت به تری‌متوپریم نیز از طریق افزایش بیان ژن‌های ذاتی افلاکس AdeFGH، AdeABC و AdeM می‌باشد (Coyne و همکاران، ۲۰۱۰). هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ژن‌های پمپ افلاکس (AdeABC) در سویه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی با مقاومت چندگانه دارویی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و شناسایی: این مطالعه به‌صورت مقطعی- توصیفی از اول اردیبهشت تا ۳۰ تیر ۱۳۹۶ انجام شد. در این مطالعه ۲۵۰ نمونه ادرار، زخم، خون، تراشه و خلط بیماران سرپایی و بستری در بیمارستان قلب تهران مورد بررسی قرار گرفت. جهت شناسایی اسینتوباکتر بومانی تست‌های افتراقی شامل TSI، SIM، MRVP، سیمون سیترات آگار، اوره آز، کاتالاز، اکسیداز و بایل اسکولین انجام شد و ۷۹ سویه اسینتوباکتر بومانی از نمونه‌ها جدا شد.

تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی: تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها به‌روش دیسک دیفوژن بر روی محیط مولر هینتون آگار طبق دستورالعمل CLSI 2015 انجام شد. برای تعیین تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک فارلند تهیه شد و بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و آنتی‌بیوتیک‌های (شرکت پادتن طب- ایران) آمیکاسین (۳۰g μ)، سفتازیدیم (۳۰g μ)، سیپروفلوکسازین (۵g μ)، ایمی‌پنم (۱۰g μ)، مروپنم (۱۰g μ)، تتراسایکلین (۳۰g μ) و تریمتوپریم (۳۰g μ) بر روی محیط کشت قرار داده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه

سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری کرده و حساسیت آنتی‌بیوتیکی به‌صورت حساس (Susceptible)، مقاوم (Resistant) و نیمه‌حساس (Intermediate) گزارش شدند.

بررسی مولکولی وجود ژن‌های AdeABC: DNA کروموزومی همه سویه‌های اسینتوباکتربومانی به‌روش فنل کلروفرم استخراج گردید و سپس جهت بررسی وجود ژن‌های پمپ افلاکس AdeABC واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد. به‌منظور کسب اطمینان از شرایط صحیح PCR از پرایمر ١٦SrRNA به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق از مقاله Xiao و همکاران (٢٠١٦) انتخاب شد و در سایت NCBI با استفاده از نرم‌افزار Blast صحت آن مورد تایید قرار گرفت. توالی پرایمرها در جدول ١ آورده شده است. واکنش PCR به کمک کیت سیناژن انجام گرفت. در این واکنش ١ میکرولیتر از DNA استخراج شده با ١٢/٥ میکرولیتر از master mix PCR شامل (١ واحدانزیم Taq DNA polymeras, سه میلی‌مول Mgcl2 و ٤٠٠ میکرومول dNTPS) و ١میکرولیتر پرایمرهای Forward, Revers با غلظت ١٠ میکرومول و ٩/٥ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه مخلوط گردید و جهت انجام PCR در دستگاه ترمال سایکلر قرار داده شد.

جدول١: مشخصات پرایمر های AdeABC

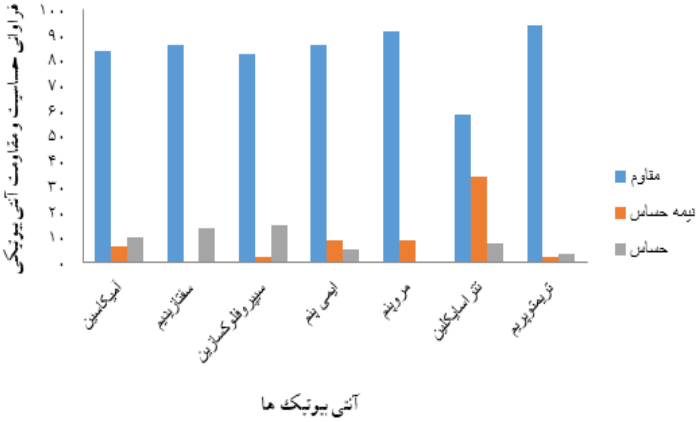
نام پرایمر	توالی پرایمر	طول محصول PCR
Ade.A-F	GAAATCCGTCCGCAAGTC	٦٨٣ bp
Ade.A-R	ACACGCACATACATACCC	٦٨٣ bp
Ade.B-F	AAAGACTTCAAAGAGCGG	٦٢٣ bp
Ade.B-R	TCACGCATTGCTTCACCC	٦٢٣ bp
Ade.C-F	ATTTCAGGTCGTAGCATT	٣٧٠ bp
Ade.C-R	CTTGATAAGTAGAGTAGGGATT	٣٧٠ bp
١٦SrRNA-F	GACGTACTCGCAGAATAAGC	٤٢٦ bp
١٦SrRNA-R	TTAGTCTTGCGACCGTACTC	٤٢٦ bp

برنامه‌ریزی دستگاه ترموسایکلر برای ژن AdeA, AdeB,AdeC و ١٦SrRNA در ٣٠ سیکل حرارتی شامل دمای دناتوراسیون اولیه ٩٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٥ دقیقه، دمای دناتوراسیون ٩٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ١دقیقه، دمای اتصال پرایمر ٥٥ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ١ دقیقه ، دمای تکثیر ٧٢ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ١ دقیقه و دمای تکثیر نهایی ٧٢ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ١٠ دقیقه انجام شد. سپس محصول PCR در ژل آگارز ١ درصد قرار گرفته با ٦x Loading رنگ‌آمیزی و تحت اشعه UV عکس‌برداری گردید. از مارکر ١٠٠bp تولید شرکت سیناژن برای شناسایی محصول PCR استفاده شد. در این تحقیق از سویه Acinetobacter banmannii ATCC19606 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برای تحلیل داده‌های آماری در این مطالعه از نرم‌افزار SPSS Version24 استفاده شد. جهت ارتباط معنی‌دار بین فراوانی ژن‌ها و نوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی اسینتوباکتر بومانی آزمون مربع کای اسکوئر با سطح معنی‌داری کم‌تر از ٠/٠٥ درنظر گرفته شد.

نتایج

از ٧٩ جدایه اسینتوباکتر بومانی بیماران مورد مطالعه ۴۴ زن (۵۶٪) و ۳۵ مرد (۴۴٪) بودند. در واقع فراوانی سویه اسینتوباکتر در زنان بیش‌تر از مردان بوده است. اسینتوباکترهای جداشده ازنمونه‌های بالینی شامل ٨ نمونه ادرار، ١ نمونه مایع لنف، ٢٥ نمونه زخم، ٩ نمونه خون، ١ نمونه خلط و ٣۶ نمونه تراشه بود.

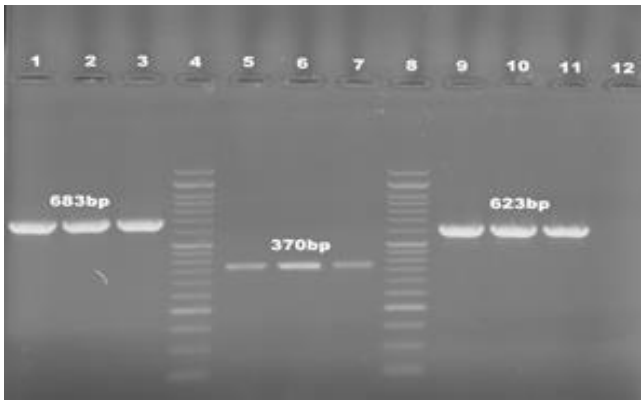
نتایج تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی: در این مطالعه میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، سفتازیدیم، سیپرو فلوکسازین، ایمی‌پنم، مروپنم، تتراسایکلین و تری‌متوپریم تعیین شد (شکل ١). بیش‌ترین مقاومت به‌ترتیب مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های تریمتوپریم، مروپنم و ایمی پنم مشاهده شد. مقاومت چندگانه دارویی (مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌بیش از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی)درجدایه‌های اسینتوباکتر بومانی بیش از ٨٠ درصد مشاهده شد.



شکل ١: نمودار میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی درسویه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی

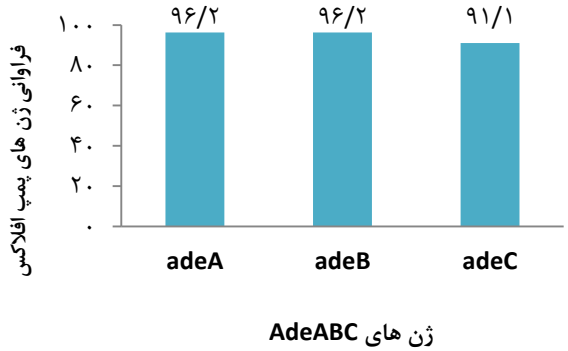
نتایج حاصل از بررسی مولکولی: پس‌از تکثیر ژن‌های Ade.A، Ade.B، Ade.C برای همه سویه‌های اسینتوباکتر بامانی محصول PCR

به‌صورت باندهایی به‌طول Ade.A 683bp، Ade.B 623 bp، Ade.C ۳۷۰bp بر روی ژل آگارز ۱ درصد مشاهده شد (شکل۲).



شکل ۱: نتایج حاصل از تکثیر ژن‌های AdeABC: چاهک ۱ تا ۳ ژن Ade.A، چاهک ۵ تا ۷ ژن Ade.C ، چاهک ۹ تا ۱۱ ژن Ade.B ، چاهک ۴ و ۸ Ladder ۱۰۰bp ، چاهک ۶،۳و۹ کنترل مثبت و چاهک ۱۲ کنترل منفی

فراوانی ژن‌های adeA، adeB ۹۶/۲٪ و فراوانی adeC ۹۱/۱٪ مشاهده شد. طبق محاسبات آماری اکثر سویه‌های اسینتوباکتر دارای ژن‌های پمپ افلاکس بودند (شکل ۳).



شکل ۳: نمودار فراوانی ژن‌ها AdeABC در سویه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی

طبق محاسبات آماری بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی تری‌متوپریم و ژن adeC رابطه معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۳۳). بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مروپنم و ژن‌های adeA، adeB ارتباط معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۰۱). بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایمی‌پنم و ژن‌های adeB، ade (P=۰/۰۳۶) و ژن adeC (P=۰/۰۰۲) نیز رابطه معنی‌داری وجود دارد. با توجه به محاسبات آماری می‌توان نتیجه گرفت ژن‌های پمپ افلاکس در ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ایمی‌پنم و مروپنم نقش دارند.

بحث

مقاومت چند دارویی MDR در سویه‌های اسینتوباکتر به‌صورت یک مشکل جهانی و فزاینده است در این راستا در مطالعات قبلی در ایران میزان مقاومت چند دارویی MDR بیش از ۴۴٪ مشاهده شده است، به‌عنوان مثال در مطالعه‌ای که توسط Khalat abadi و همکاران (۲۰۰۸) در بیمارستان‌های کاشان صورت گرفته میزان MDR، ۴۴ درصد گزارش شده‌است. Taherikalani (۲۰۱۵) در شهر تهران سویه‌های MDR اسینتوباکتر را ۴۴/۴ درصد گزارش کرد. مشابه این نتایج در مطالعات جهانی نیز گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعات انجام شده در پاکستان و تایلند در سال‌های ۲۰۱۵ اشاره نمود که میزان سویه‌های MDR اسینتوباکتر بومانی به‌ترتیب ۴۳٪ و ۴۲٪ گزارش شده است (García-Garmendia و همکاران، ۲۰۱۵). در مطالعه حاضر میزان مقاومت چند دارویی در سویه‌های اسینتوباکتر جدا شده از بیمارستان قلب تهران بالای ۸۰ درصد مشاهده شد. افزایش مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی در این مطالعه نشان‌دهنده این امر است که MDR در سویه‌های اسینتوباکتر در بیمارستان مورد مطالعه در حال افزایش می‌باشد. طی مطالعه Khosrishahi و Sharifi (۲۰۰۷) بر روی ایزوله‌های بالینی اسینتو باکتر بامانی در شهر قزوین میزان مقاومت به ایمی‌پنم ۲۶/۶٪ گزارش شد و در مطالعه Japoni Nejad و همکاران (۲۰۱۴) میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران بخش ICU بیمارستان شهر اراک ۱۰۰٪ گزارش شده‌است. طی مطالعه Peymani و همکاران (۲۰۱۲) مقاومت به ایمی‌پنم در ایزوله‌های اسینتوباکتربامانی شهر تبریز ۶۰٪ گزارش شد. در این مطالعه مقاومت اسینتوباکتر به ایمی‌پنم و مروپنم به‌ترتیب ۸۶/۲۵٪ و ۹۱/۲۵٪ مشاهده شد. مقایسه نتایج مطالعات نشان می‌دهد که میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی رو به افزایش است (Lee و همکاران، ۲۰۰۴).

طی مطالعه Lin (۲۰۱۷) میزان حساسیت ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی تایوان نسبت به آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم سولفو متوکسازول ۵۹/۵۷٪ و میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم و ایمی‌پنم ۵۷/۴۵٪ و ۶۱/۷٪ گزارش شد. Babapour و همکاران (۲۰۱۷) میزان مقاومت ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتربومانی به تری

متوپریم ۸۹/۱۰٪ گزارش کردند. مطالعه Normohamady و همکاران (۲۰۱۵) میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم و مروپنم را به‌ترتیب ۸۶٪ و ۷۳٪ نشان داد.

مطالعات انجام شده توسط Karlowsky و همکاران (۲۰۰۳) نشان‌داد ۹۰ درصد سویه‌های اسینتوباکتر به مروپنم حساس‌می‌باشند. همان‌طورکه مقایسه نتایج نشان می‌دهد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سال‌های اخیر افزایش چشمگیری یافته است که یک علت مهم آن انتقال ژن‌ها بین باکتری‌ها می‌باشد که در مکان‌های آلوده مانند بیمارستان‌ها اتفاق می‌افتد و درمان آنتی‌بیوتیکی عفونت‌ها را با مشکل مواجه می‌نماید. ژن‌های ایجادکننده مقاومت در باکتری منجر به تولید پروتئین‌هایی می‌گردد که بر حسب ژن کدکننده آن بر روی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به‌صورت متفاوت عمل می‌کنند، یک گروه از این ژن‌ها کدکننده پروتئین‌های تراوشی یا افلاکس هستند که می‌توانند داروها را به خارج از باکتری تراوش کنند در نتیجه تراکم آنتی‌بیوتیک در سلول باکتری کاهش یافته و نمی‌تواند اثر بازدارندگی خود را اعمال نماید. Jassim و همکاران (۲۰۱۶) شیوع ژن‌های adeA، adeB و adeC را در ایزوله‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیمارستان بغداد به‌ترتیب ۱۰۰، ۱۰۰٪، ۸۳/۳٪ گزارش کردند. مطالعات Japoni Nejad و همکاران(۲۰۱۴) و Jassim و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد فراوانی ژن‌های adeA و adeB بالاتر از adeC می‌باشد ولی تفاوت زیادی در فراوانی وجود این ژن‌ها مشاهده نشد. در این مطالعه نیز فراوانی دو ژن adeA و adeB ۹۶/۲٪ مشاهده شد که کمی بالاتر از adeC با فراوانی ۹۱/۱٪ می‌باشد. Wieczorek و همکاران (۲۰۰۸) نقش اصلی در مقاومت دارویی نسبت به اریترومایسین و سایر داروهایی هم‌چون کلرآمفنیکل را افزایش بیان ژن AdeABC عنوان کردند.

Sugawara و همکاران (۲۰۱۴) ژن Adeljk را نیز درمقاومت اریترومایسین نسبت به آسینتوباکتر بامانی دخیل دانستند اما ژن AdeABC را دارای نقش مهم‌تری در مقاومت دارویی اریترومایسین دانستند. Maraki و همکاران (۲۰۱۶) در یونان عنوان کردند که کم‌تر از ۳۰ درصد سویه‌های اسینتوباکتر بومانی نسبت به تری‌متوپریم حساسیت نشان می‌دهد و مسئول مقاومت در سویه‌های مقاوم حضور و بیان ژن AdeABC می‌باشد. درحالی‌که در این مطالعه میزان مقاومت به تری‌متوپریم حدود ۹۳/۷٪ بود که نسبت به‌مطالعه Maraki و همکاران (۲۰۱۶) مقاومت بسیار بالاتری می‌باشد که با توجه به این‌که از نظر زمان هر دو مطالعه در زمان نزدیک به‌هم انجام شده ولی این تفاوت زیاد در میزان مقاومت مربوط به شرایط درمانی، وفور مصرف آنتی‌بیوتیک، در دسترس بودن راحت دارو و عوامل دیگر می‌باشد که باعث گسترش و افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در این مطالعه می‌باشد. در این مطالعه مانند مطالعه Maraki و همکاران (۲۰۱۶) فراوانی ژن‌های AdeABC بالا بود.

در این مطالعه مشاهده شد که ژن‌های AdeABC در بالاتر از ۹۰ درصد سویه‌ها وجود دارد و هم‌چنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این سویه‌ها بسیار بالاست. در سه آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم، ایمی‌پنم و مروپنم رابطه معنی‌دار بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و وجود ژن‌های AdeABC وجوددارد. می‌توان نتیجه گرفت وجود ژن‌های پمپ افلاکس AdeABC می‌تواند در ایجاد مقاومت در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مقاوم به تری‌متوپریم، ایمی‌پنم و کارباپنم نقش داشته باشد ولی برای حصول اطمینان باید بیان ژن‌ها در حضور این آنتی‌بیوتیک‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

۱. **Ambudkar, S.V.; Dey, S.; Hrycyna, C.A.; Ramachandra, M.; Pastan, I. and Gottesman, M.M., 1999.** Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter 1. Annual review of pharmacogical and toxicology. Vol. 39, No. 1, pp: 361-398.

۲. **Babapour, E.; Haddadi, A.; Mirnejad, R.; Angaji, S.A. and Amirmozafari, N., 2017.** Study of drug resistance and ompA gene existence in clinical Acinetobacter baumannii isolates. IJMM. Vol. 11, No. 1, pp: 30-38.

۳. **Chopra, I. and Roberts, M., 2001.** Tetracycline antibiotics: mod of action, applications, moleculr biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiology and molecular biology Reviews. Vol. 65, No. 2, pp: 232-260.

۴. **Coyne, S.; Rosenfeld, N. and Lambert, T., 2010.** Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers multidrug resistance in Acinetobacter baumannii. Antimicrobial agents and chemotherapy. Vol. 54, pp: 4389-4393.

۵. **García-Garmendia, J.L.; Ortiz-Leyba, C.; Garnacho Montero, J.; Jiménez-Jiménez, F.J.; Monterrubio-Villar, J. and Gili-Miner, M., 1999.** Mortality and the increase in length of stay attributable to the acquisition of Acinetobacter in critically ill patients. Crit Care Med. Vol. 27, No. 9, pp: 1794-1799.

۶. **Hartzell, J.D.1.; Kim, A.S.; Kortepeter, M.G. and Moran, K.A., 2007.** Acinetobacter Pneumonia: A Review. MedGenMed. Vol. 9, pp: 1-6.

۷. **Hujer, K.; Hujer, A.; Hulten, E.; Bajaksouzian, S.; Adams, J. and Donskey, C., 2006.** Analysis of Antibiotic Resistance Genes in Multidrug-Resistant Acinetobacter sp. Isolates from Military and Civilian Patients treated at the Walter Reed Army Medical Center. Antimicrob Agents Chemother. Vol. 50, No. 12, pp: 4114-4123.

۸. **Japoni Nejad, A.; Ghaznavi Raad, A. and Soofian, M., 2014.** Molecular detection of AdeABC efflux pump genes in clinical isolates of acinetobacter baumannii and their contribution in imipenem resistance. Tebe Jonoob. Vol. 5, pp: 815-823. [In Persian]

۹. **Jassim, K.; Ghaima, K. and Saadedin, M., 2016.** AdeABC efflux pump gene in multidrug resistant Acinetobacter baumanii isolates. Avecina Journal of clinica microbiology and Infection. Vol. 3, No. 4, pp: 131-146.

۱۰. **Karlowsky, J. A.; Draghi, D.C.; Jones, M.C.; Thornsberry, C.; Friedland, I.R. and Sahm, D.F., 2003.** Surveillance for Antimicrobial Susceptibility among Clinical Isolates of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii from Hospitalized Patients in the United States, 1998 to 2001.Antimicrob Agents Chemother. Vol. 47, pp: 1681-1688.

۱۱. **Katsaragakis, S.; Markogiannakis, H.; Toutouzas, K.; Drimousis, P.; Larentzakis, A. and Theodoraki, E.M., 2008.** Acinetobacter baumannii infections in a surgical intensive care unit: predictors of multi-drug resistance. World J Surg. Vol. 6, pp: 1194-1202.

۱۲. **Khalat abadi, R.; Moniri, R.; Shajari, G.; Nazem, H.; Mosavi, A. and Ghasemi, A., 2008.** Antibiotic resistance pattern and release of antibiotic resistance genes in Acinetobacter species isolated from Shahid Beheshti Hospital in Kashan. Feyz. Vol. 4, pp: 60-66. [In Persian]

۱۳. **Khosrishahi, N. and Sharifi, M., 2007.** Isolation of carbapenem resistant Acinetobacter baumannii(CRAB) strains from patients and equipments of Intensive care units (ICUs) at Qazvin between 2005-2006. Iran J Med Microbiol. Vol. 1, No. 3, pp: 33-38. [In Persian]

۱۴. **Lee, S.O.; Kim, N.J.; Choi, S.H.; Hyong, K.T.; Chung, J.W. and Woo, J.H., 2004.** Risk factors for acquisition of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii: a case-control study. Antimicrob Agents Chemother. Vol. 48, No. 1, pp: 224-228. [PubMed: 14693543]

۱۵. **Lin, F.; Xu, Y.; Chang, Y.; Liu, C.; Jia, X. and Ling, B., 2017.** Molecular Characterization of Reduced Susceptibility to Biocides in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii.* Front Microbiol. Vol. 8. published online.

۱۶. **Lubelski, J.; Konings, W.N. and Driessen, A.J., 2007.** Distribution and physiology of ABC-type transporters contributing to multidrug resistance in bacteria. Microbiology Mol Biol. Vol. 71, pp: 463-476.

۱۷. **Maraki, S.; Mantadakis, E.; Mavromanolaki, V.; Kofteridis, D. and Samonis, G.A., 2016.** 5-year Surveillance Study on Antimicrobial Resistance of Acinetobacter baumannii Clinical Isolates from a Tertiary Greek Hospital. Infect Chemother. Vol. 48, No. 3, pp: 190-198

۱۸. **Murray, P.R. and Baron, E.J., 2010.** Murray Medical Microbiology. 7th ed.

۱۹. **Nikaido, H., 1994.** Prevention of drug access to bacterial targets: Permeability barriers and active efflux. Science. Vol. 264, pp: 382-388.

۲۰. **Normohamady, Z.; Zamanzad, B.; Shavarzi, A. and Kiani, P., 2015.** Evaluation antimicrobial resistance of Acinetobacter baumannii isolated from Shahrekord teaching hospitals in 2013. J Shahrekord Univ Med Sci. Vol. 16, No. 6, pp: 1-8

۲۱. **Peymani, A.; Higgins, P.G.; Nahaei, M.R.; Farajnia, S. and Seifert, H., 2012.** Characterisation and clonal dissemination of OXA-23-producing Acinetobacter baumannii in Tabriz, northwest Iran. Int J Antimicrob Agents. Vol. 39, pp: 526-528.

۲۲. **Pulsen, I.T. and Lewis, K., 2001.** Microbial Multidrug efflux: introduction. Journal of molecular Microbiology an Biotecnology. Vol. 3, No. 2, pp: 143-144.

۲۳. **Su, C.H.1.; Wang, J.T.; Hsiung, C.A.; Chien, L.J.; Chi, C.L. and Yu, H.T., 2012.** Increase of Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii Infection in Acute Care Hospitals in Taiwan: Association with Hospital Antimicrobial Usage. plose one. Vol. 5, pp: 1-6.

۲۴. **Sugawara, E.1. and Nikaido, H., 2014.** Properties of AdeABC and AdeIJK efflux systems of Acinetobacter baumannii compared with those of the AcrAB-TolC system of Escherichia coli. Antimicrob Agents Chemother. Vol. 58, No. 12, pp: 7250-7257.

۲۵. **Taherikalani, M.; Etemadi, G.; Geliani, K.N.; Fatollahzadeh, B.; Soroush, S. and Feizabadi, M.M., 2008.** Emergence of multi and pandrug resistance Acinetobacter baumannii carrying blaOXA-type-carbapenemase genes among burn patients in Tehran, Iran. Sudi Med J. Vol. 29, No. 4, pp: 623-624.

۲۶. **Vila, J.1.; Mart, S. and Snchez-Céspedes, J., 2007.** Porins, efflux pumps and multidrug resistance in Acinetobacter baumannii. oxford academi. Vol. 59, pp: 1210-1215.

۲۷. **Wieczorek, P.1.; Sacha, P.; Hauschild, T.; Zórawski, M.; Krawczyk, M. and Tryniszewska, E., 2008.** Multidrug resistant Acinetobacter baumannii--the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. Folia Histochem Cytobiol. Vol. 46, No. 3, pp: 257-267.

۲۸. **Xiao, S.Z.1.; Chu, H.Q.; Han, L.Z.1.; Zhang, Z.M.; Li, B.; Zhao, L. and Xu, L., 2016.** Resistant mechanisms and molecular epidemiology of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii. Mol Med Rep. Vol. 14, No. 3, pp: 2483-24888.