

## ارزیابی سیستم توکسین-آنتی توکسین در اسیتوباکترهای مقاوم چنددارویی Multidrug resistant جدا شده از نمونه‌های کلینیکی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۸

مرضیه امینی<sup>۱</sup>، مجید باصری صالحی<sup>۲\*</sup>،  
نیما بهادر<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری تخصصی میکروبیولوژی،  
گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه،  
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، فارس،  
ایران

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده  
علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی،  
واحد کازرون، فارس، ایران

<sup>۳</sup> دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده  
علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد  
شیراز، فارس، ایران

### چکیده

**مقدمه:** اسیتوباکتر بومانی از مهمترین پاتوژن‌های بیمارستانی واکتسابی از جامعه می‌باشد که در برابر بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است. سیستم‌های توکسین-آنتی توکسین، سیستم‌های نظارتی نگهدارنده در باکتری‌ها هستند و به عنوان اهداف جدیدی برای درمان‌های ضد میکروبی در نظر گرفته شده‌اند. شیوع و رونویسی از این سیستم‌ها در ایزوله‌های بالینی هنوز ناشناخته است. هدف از این مطالعه ارزیابی سیستم توکسین-آنتی توکسین (*higBA* و *relBE mazEF*) در اسیتوباکتر بومانی با مقاومت چنددارویی جدا شده از نمونه‌های بالینی است.

**مواد و روش‌ها:** در مطالعه ۶۰ ایزوله از گونه‌های اسیتوباکتر از ۲۵۵ نمونه بالینی جمع آوری شد. شناسایی اسیتوباکتر بومانی توسط تست‌های بیوشیمیایی اکسیداز، سترات، SIM و TSI صورت گرفت. آزمون حساسیت ضد میکروبی با روش انتشار دیسک و روش PCR برای شناسایی ژن‌های سیستم توکسین-آنتی توکسین (*higBA* و *relBE*، *mazEF*) انجام شد.

**یافته‌ها:** بیشترین مقاومت به آمپی سیلین (۹۸/۳ درصد) و کمترین مقاومت به کولیستین (۳۵ درصد) بود. مقاومت بیش از ۹۰٪ در ۱۲ آنتی‌بیوتیک از ۱۵ آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه مشاهده شد و از ۶۰ ایزوله، ۹۸/۳۴٪ نسبت به بیش از ۸ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و فقط یک نمونه به همه حساس بود. نسخه‌های *higBA mazEF* و *relBE* تقریباً در نیمی از ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی مورد مطالعه وجود داشت. در همه نمونه‌ها، بیش از ۸۰٪ ایزوله‌ها حاوی هر یک از ژنهای *higBA mazEF* و *relBE* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آزمایش شده مقاوم بودند (به استثنای کولیستین که تقریباً ۴۰٪ بود). فراوانی ژن‌های *higBA mazEF* و *relBE* به ترتیب ۲۴ (۴۰٪)، ۳۲ (۵۳/۳۳٪)، ۳۵ (۵۳/۳۳٪) بود. ۶ ایزوله (۱۰٪) برای هر سه ژن منفی بود.

**نتیجه‌گیری:** مقاومت آنتی‌بیوتیکی چشمگیری در بین ایزوله‌های مورد بررسی دیده شد. بر اساس وجود سیستم‌های TA در نیمی از ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی این سیستم‌ها می‌توانند به عنوان یک هدف جدید برای درمان ضد میکروبی استفاده شوند.

**کلمات کلیدی:** مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سیستم توکسین-آنتی توکسین، اسیتوباکتر بومانی

نویسنده مسئول:

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده  
علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی،  
واحد کازرون، فارس، ایران

۰۹۱۷۱۵۵۷۸۶۲

Email: majidbaserisalehi682@gmail.com

## مقدمه

اسیتوباکتر بومانی (*Acinetobacter baumannii*) یک پاتوژن فرصت طلب و تعدادی از گونه‌های اسپیتوباکتر مستقیماً در عفونت‌های انسانی دخیل اند، که مهم‌ترین آن‌ها اسپیتوباکتر بومانی است. اسپیتوباکتر بومانی یک پاتوژن گرم منفی فرصت طلب، هوازی، کوکوباسیل، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت، غیرتخمیری و فاقد اسپور می‌باشد و توانایی رشد در pHهای مختلف را دارد. امروزه علاوه بر فساد مواد غذایی، مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های اسپیتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو (Multidrug resistant)، از مهمترین عوامل عفونت بیمارستانی به شمار می‌رود. مقاومت آنتی بیوتیکی در این سویه به واسطه مکانیسم‌های اکتسابی و ذاتی همچون تغییر آزنیمی، موتاسیون در ژن‌های هدف، تغییر نفوذ پذیری غشای خارجی، افزایش بیان افلاکس پمپ‌ها و انتقال ژن‌های مقاومت دارویی منتقل شونده با عناصر ژنتیکی متحرک (مثل ترانسپوزون‌ها) رخ می‌دهد.<sup>۱</sup>

مطالعات اپیدمیولوژیک اثبات کرده است که این باکتری به ندرت می‌تواند موجب بروز عفونت‌های سخت در افراد با سطح ایمنی طبیعی شود، اما در گروه‌های مختلف مستعد عفونت‌های فرصت طلب، همچون افراد بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان، افراد دارای نقص ایمنی یا سوختگی وسیع و سالمندان، موجب ایجاد عفونت‌های مجاری ادراری، مننژیت، اندوکاردیت، پریتونیت، عفونت‌های زخم و عفونت پوست می‌شوند.<sup>۲</sup>

سیستم‌های توکسین-آنتی توکسین (Toxin-antitoxin system) در باکتری‌ها متداول هستند. سیستم توکسین-آنتی توکسین مجموعه‌ای از دو یا چند ژن نزدیک متصل به هم است که با هم پروتئین "توکسین" و "آنتی توکسین" مربوطه را رمزگذاری می‌کنند. این سیستم‌ها برای رشد طبیعی سلول ضروری نیستند، اما در عملکردهای سلولی متعدد مرتبط با بقا تحت شرایط استرسی نقش دارند. سیستم‌های توکسین-آنتی توکسین، شامل یک سم و یک ضد سم یا آنتی توکسین است، که به ترتیب اجزای پایدار و ناپایدار هستند. هر دو مؤلفه تشکیل یک کمپلکس می‌دهند که در آن فعالیت و یا سنتز سموم توسط آنتی توکسین مهار می‌شود. سیستم‌های TA یا توسط پلاسمیدها رمزگذاری شده‌اند و یا در کروموزوم‌های باکتریایی ساکن

هستند و در پلاسمیدها با تثبیت پلاسمید مرتبط می‌باشند. از لحاظ تئوری مکان توکسین-آنتی توکسین فقط برای حفظ DNA پلاسمید به هزینه ارگانیزم میزبان بکار گرفته می‌شود. در حال حاضر سویه‌های بالینی باکتری‌ها به دلیل مقاومت چند دارویی، پایداری و بیماری‌زایی شدید باعث ایجاد مشکلات اساسی در سلامت انسان می‌شوند. شناخت ژن‌های کد کننده آن می‌تواند باعث ایجاد خطوط جدید درمانی در مورد عفونت‌های ناشی از عوامل بیماری‌زا شود.<sup>۳</sup>

سیستم‌های TA از یک توکسین و یک پروتئین آنتی توکسین (که هنگام بیان، توکسین باکتری را از بین می‌برد) تشکیل شده است. آنتی توکسین به توکسین متصل شده و آن را خنثی می‌کند، از این رو از خودکشی باکتری جلوگیری می‌شود.<sup>۴</sup> پروتئین توکسین همیشه پایدار است، در حالی که آنتی توکسین ناپایدار است. ماهیت ناپایدار آنتی توکسین باعث می‌شود به شدت مستعد تخریب پروتئولیتیک باشد. هنگامی که آنتی توکسین تخریب شده یا کاربردی نیست، توکسین تولید شده باعث از بین رفتن باکتری می‌شود، که به عنوان مرگ سلولی برنامه ریزی شده شناخته می‌شود.<sup>۵،۶</sup>

روشی که اغلب برای شناسایی در سطح جنس استفاده می‌شود، متکی بر توانایی موتانت اسپیتوباکتر بایلی سویه‌ی BD413 trpE27 است که توسط DNA خام از هر گونه اسپیتوباکتر به یک فنوتیپ از نوع وحشی تبدیل می‌شود. در حالی که برای شناسایی در سطح گونه ۲۸ آزمایش فنوتیپی وجود دارد که ثابت شده است ۹۵/۶٪ در شناسایی اسپیتوباکترهای مشتق از پوست انسان مؤثر است. با این-حال، آزمایشات فنوتیپی به تنهایی در شناسایی گونه‌های ژنومیک اسپیتوباکتر که اخیراً کشف شده، مؤثر نیست و روش‌های تشخیصی مولکولی پیشرفته‌تری برای شناسایی اسپیتوباکترها در سطح گونه ایجاد شده است.<sup>۷-۸</sup>

از آنجایی که تاکنون درباره بکارگیری سیستم توکسین-آنتی-توکسین جهت بررسی شیوع اسپیتوباکتر در کشور تحقیقی صورت نگرفته با توجه به تنوع جایگاه‌های وجود اسپیتوباکتر بومانی و بروز همه‌گیری‌های این باکتری به ویژه در بخش مراقبت‌های ویژه که اغلب در یک برهه زمانی رخ می‌دهد و مقاومت ارگانیزم به کلاس‌های متعددی از عوامل ضد میکروبی و بدلیل تعدد تجهیزات در بخش مراقبت‌های ویژه، این منبع بالقوه بایستی بصورت دقیق و موشکافانه مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش ها

### جمع آوری ایزوله‌های *اسیتوباکتر بومانی* از نمونه های بالینی

#### بیماران

از ۲۵۵ نمونه بالینی شامل: خون، ادرار، خلط، ترشحات تنفسی، ادرار، زخم، پوست و غیره از بیماران بستری در بخش های مختلف بیمارستان دی و البرز شهرتهران جمع آوری شد. نمونه‌ها از بیمارانی که حداقل به مدت سه روز در بیمارستان‌ها بستری بودند و عفونت را در محیط بیمارستان کسب کرده بدست آمد. برای جداسازی اولیه، نمونه های بالینی در محیط‌های کشت مک‌کانکی آگار و بلادآگار حاوی ۰.۵٪ خون گوسفند به صورت خطی کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرماگذاری شدند. پس از طی مدت زمان گرماگذاری، کشت‌ها از نظر ویژگی های ماکروسکوپی ( مشخصات ظاهری کلونی ها) و میکروسکوپی با کمک تکنیک رنگ آمیزی گرم بررسی شدند. پس از این مدت زمان انکوباسیون، پلیت‌ها براساس مشاهده رشد کلنی‌ها، پس از رنگ-آمیزی گرم و مشاهده باسیل‌های گرم منفی زیر میکروسکوپ، تست-های بیوشیمیایی برای شناسایی ایزوله‌ها انجام شد.

شدند. تمامی دیسک‌های گروه بتالاکتام مانند پنی سیلین، آمپی سیلین، کربنی سیلین، تیکارسیلین، اگزاسیلین و نسل اول، دوم و سوم سفالوسپورین‌ها و غیره در فریزر نگهداری شدند، و فقط مقداری از آن بر اساس کار روزانه آزمایشگاه حداکثر به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شدند.

دیسک‌ها در ظروف دارای درپوش محکم و حاوی مواد جاذب رطوبت نگهداری شدند، دیسک‌های آنتی بیوتیکی یک تا دو ساعت قبل از استفاده از یخچال یا فریزر خارج شدند تا به درجه حرارت اتاق برسند. دیسک‌های آنتی بیوتیک از دسته بندی‌های مختلف آنتی-بیوتیکی شامل آمپی سیلین؛ با علامت اختصاری AM (۱۰µg)، سفوتاکسیم؛ CTX (۳۰µg)، کلرامفنیکل؛ C (۳۰µg)، سفتریاکسون؛ CRO (۳۰µg)، سفتازیدیم؛ CAZ (۳۰µg)، مروپنم؛ MEN (۱۰µg)، تیکارسیلین؛ TIC (۷۵ µg)، جنتامایسین؛ GM (۱۰µg)، سپروفلوکساین؛ CP (۵µg)، باکتریم؛ سفیم؛ FEP (۳۰µg)، پیپراسیلین؛ PIP (۱۰µg)، آمیکاسین؛ AN (۳۰µg)، توبرامایسین؛ OB (۱۰µg)، کولیستین؛ CL (۱۰µg) بودند.<sup>۱۰</sup>

#### شناسایی ملکولی ژن‌های سیستم TA

به منظور استخراج DNA باکتری از کیت استخراج DNA سیناژن استفاده شد و با این کیت استخراج به روش ستونی انجام گرفت.

#### واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)

پس از استخراج DNA، از PCR برای شناسایی ژن‌های کد کننده سیستم توکسین-آنتی توکسین پلاسمیدی انجام شد. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در جدول اذکر شده است.<sup>۱۱</sup> برنامه حرارتی - زمانی PCR برای تکثیر تمام ژن‌ها به شرح جدول ۲ است. برای هر کدام از ژن‌ها، حجم نهایی مخلوط واکنش ۲۵ µl در نظر گرفته شد. به این ترتیب که ۱ µl از پرایمر رفت (F)، ۱ µl از پرایمر برگشت (R) با غلظت نهایی ۱۰ پیکو مول، ۱ µl از DNA به عنوان الگو، ۱۲/۵ µl از 2XTaq Master mix و ۹/۵ µl آب مقطر دوبار تقطیر استفاده گردید.

#### شناسایی بیوشیمیایی ایزوله‌ها

تعیین هویت *اسیتوباکتر بومانی* با انجام تست‌های بیوشیمیایی مختلف مطابق با کتابهای مرجع از جمله تست های واکنش گرم، واکنش آلکالین / آلکالین در محیط TSI و SIM تست اکسیداز، تحرک، تست کاتالاز، آزمایش سیترات تولید اسید از گلوکز در محیط OF صورت گرفت.<sup>۹</sup>

#### تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن

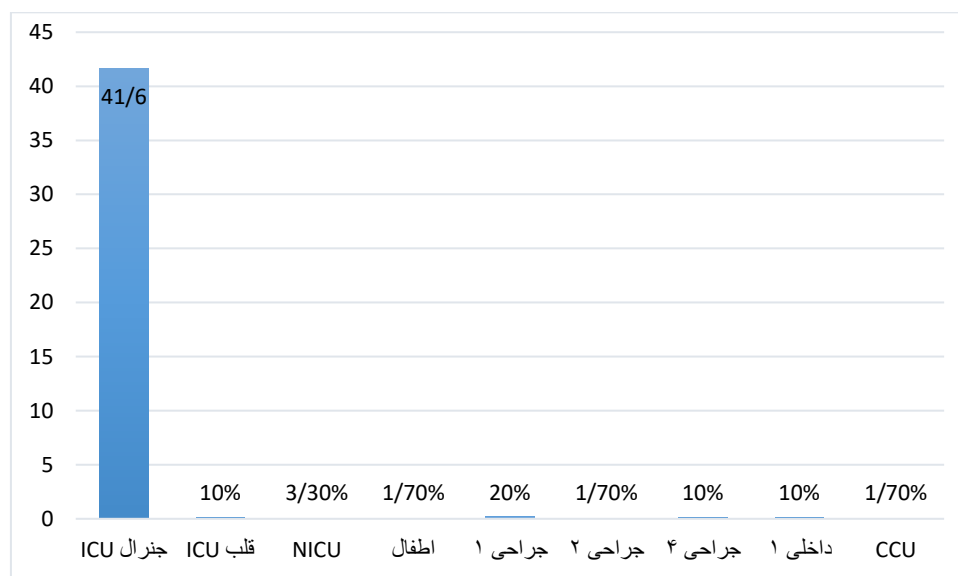
حساسیت آنتی بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط مولر هینتون آگار ( با PH ۷/۴ تا ۷/۲) با توجه به دستورالعمل‌های Clinical and Laboratory Standards CLSI Institute سال ۲۰۱۸ انجام شد. دیسک‌های مورد استفاده در این پژوهش مربوط به شرکت پادتن طب و شرکت ROSCO کشور دانمارک تهیه گردید. دیسک‌ها در یخچال تا زمان مصرف نگهداری

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام روش PCR<sup>۱۱</sup>

نام ژن	سکانس پرایمر	اندازه محصول (bp)
mazEF	5'-ACCTTCGAAGGAACTACGTCAGTAG-3' 5'-ATAGGCGAACATGCAAGAAAAGGCAGC-3'	۴۴۰
relBE	5'-ATGAAGTGAACGGTCAACAATA-3' 5'-ACAGACCTCGGAAAGTGGTTCG-3'	۵۷۸
higBA	5'-AGCACATCCGTACGATCTACTGC-3' 5'-TGCACTCCTGCGATGCGGCGAA-3'	۴۳۶

جدول ۲: برنامه زمانی - حرارتی Multiplex PCR برای ژنهای پلاسمیدی

مرحله	دما (درجه سلسیوس)	زمان (ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۴	۶۰	۱
واسرشت	۹۴	۶۰	-
اتصال	۵۴	۶۰	-
بازآرایی (گسترش)	۷۲	۹۰	۳۰
بازآرایی نهایی	۷۲	۶۰۰	۱



نمودار ۱: درصد ایزوله‌های بدست آمده از بیماران به تفکیک بخش‌های بستری

شده به دلیل مشکلات قلبی بود و کمترین تعداد نمونه (۱ نمونه) از بیماران بستری شده به علت تنگی نفس، جراحی پلاستیک، جراحی دریچه آئورت و زایمان بود (جدول ۴ و نمودار ۲).

### جداسازی و شناسایی اسیتوباکترها توسط ویژگی‌های بیوشیمیایی

از بین ۲۵۵ نمونه جمع آوری شده، ۶۰ ایزوله/اسیتوباکتر بومانی شناسایی شد. نتایج بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی ایزوله‌های اسیتوباکتر تایید باکتری را نشان می‌دهد. ویژگی بیوشیمیایی اسیتوباکترها شامل اکسیداز منفی، سترات مثبت، SIM منفی و TSI بصورت ALK/ALK است.

### الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی بر حسب نوع آنتی‌بیوتیک

طبق نتایج بدست آمده از میان ۱۵ آنتی‌بیوتیک انتخابی بیشترین مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین (۹۸/۳٪) و کمترین مقاومت نسبت به کولیسیتین (۳۵٪) مشاهده شد. در بین ایزوله‌های بدست آمده ۱ نمونه به سفنازیدیم، پیراسیلین و سفیم نیمه‌حساس بودند (جدول ۵ و نمودار ۳).

با الکتروفورز محصولات PCR در کنار مارکر ۱۰۰bp بر روی ژل آگارز ۱٪ انجام گرفت. بعد از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از دستگاه ژل داک (Bio-Rad, USA) و نور UV، باندهای مورد نظر ارزیابی شدند. از سویه‌های شناسایی شده موجود در آزمایشگاه (حاوی ژن‌های مورد نظر) که قبلاً توالی‌یابی شده بودند، به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۰، Excel و آزمون کای دو و فیشر تجزیه و تحلیل شدند و سطح معنی داری، کمتر یا مساوی ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ( $p=0/05$ ).

### نتایج

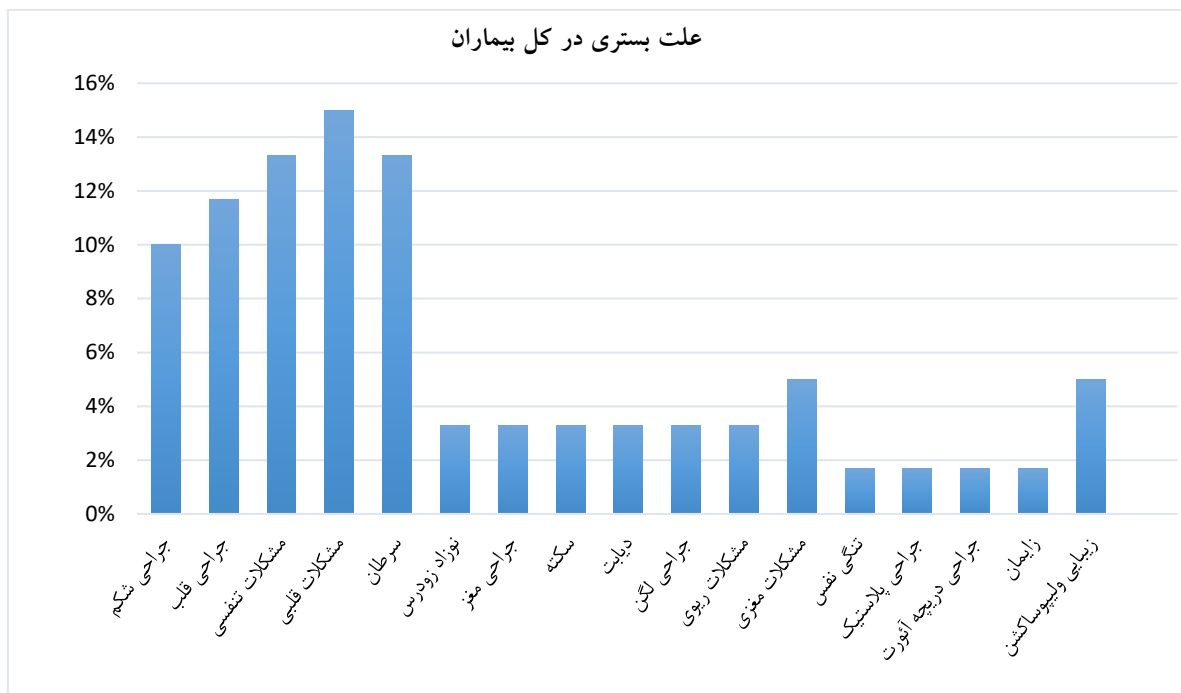
از ۲۵۵ ایزوله بدست آمده ۶۰ ایزوله اسیتوباکتر بومانی شناسایی شد که بیشترین تعداد ایزوله‌های بدست آمده از نمونه‌های نای به میزان ۲۸ نمونه (۶۶/۶٪) بود. تعداد باقی نمونه‌ها به شرح جدول ۳ می‌باشد. بیشترین تعداد نمونه از بخش ICU جنرال (۱۱ نمونه از بیماران زن و ۱۴ نمونه از بیماران مرد) و کمترین تعداد نمونه از یک بیمار مرد بستری در CCU بدست آمد (جدول ۳ و نمودار ۱). ایزوله‌ها از ۲۷ زن و ۳۳ مرد بیمار بستری شده در بیمارستان بدست آمد. بیشترین نمونه بدست آمده (۹ نمونه) از بیماران بستری

جدول ۳: درصد فراوانی ایزوله‌های بدست آمده از بیماران به تفکیک جنسیت در بخش‌های بستری

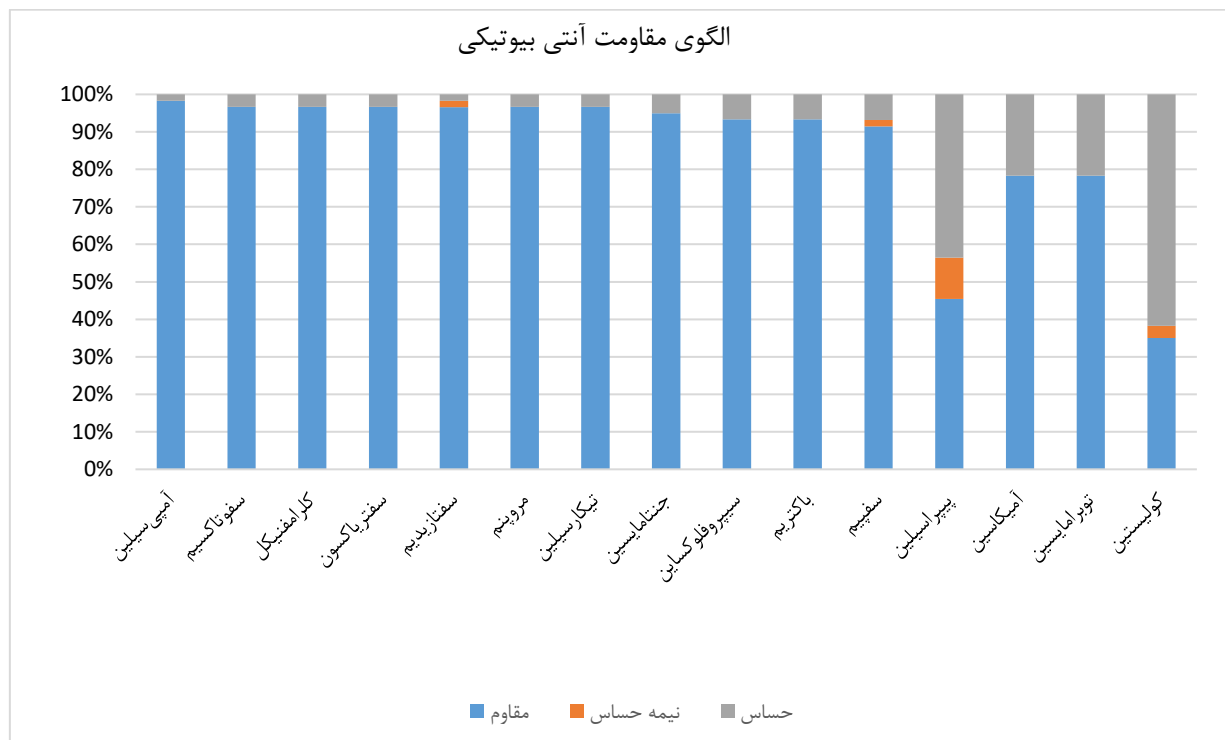
بخش‌های بستری	زن		مرد		کل	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
ICU جنرال	۱۱	۴۰/۸٪	۱۴	۴۲/۴۵٪	۲۵	۴۱/۶٪
ICU قلب	۳	۱۱/۱٪	۳	۹/۱٪	۶	۱۰٪
NICU	۱	۳/۷٪	۱	۳٪	۲	۳/۳٪
اطفال	۱	۳/۷٪	۰	۰	۱	۱/۷٪
جراحی ۱	۱	۳/۷٪	۱۱	۳۳/۳٪	۱۲	۲۰٪
جراحی ۲	۱	۳/۷٪	۰	۰	۱	۱/۷٪
جراحی ۴	۶	۲۲/۲٪	۰	۰	۶	۱۰٪
داخلی ۱	۳	۱۱/۱٪	۳	۹/۱٪	۶	۱۰٪
CCU	۰	۰	۱	۳٪	۱	۱/۷٪

جدول ۴: توزیع فراوانی علت بستری در بیماران بخش‌های مختلف بیمارستان‌ها به تفکیک جنسیت

علت بستری	زن		مرد		کل	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
جراحی شکم	۲	٪ ۷/۵	۴	٪ ۱۲/۱	۶	٪ ۱۰
جراحی قلب	۳	٪ ۱۱/۱	۴	٪ ۱۲/۱	۷	٪ ۱۱/۷
مشکلات تنفسی	۳	٪ ۱۱/۱	۵	٪ ۱۵/۲	۸	٪ ۱۳/۳
مشکلات قلبی	۳	٪ ۱۱/۱	۶	٪ ۱۸/۲	۹	٪ ۱۵
سرطان	۲	٪ ۷/۵	۶	٪ ۱۸/۲	۸	٪ ۱۳/۳
نوزاد زودرس	۱	٪ ۳/۷	۱	٪ ۳	۲	٪ ۳/۳
جراحی مغز	۱	٪ ۳/۷	۱	٪ ۳	۲	٪ ۳/۳
سکته	۰	۰	۲	٪ ۶/۱	۲	٪ ۳/۳
دیابت	۱	٪ ۳/۷	۱	٪ ۳	۲	٪ ۳/۳
جراحی لگن	۱	٪ ۳/۷	۱	٪ ۳	۲	٪ ۳/۳
مشکلات ریوی	۰	۰	۲	٪ ۶/۱	۲	٪ ۳/۳
مشکلات مغزی	۳	٪ ۱۱/۱	۰	۰	۳	٪ ۵
تنگی نفس	۱	٪ ۳/۷	۰	۰	۱	٪ ۱/۷
جراحی پلاستیک	۱	٪ ۳/۷	۰	۰	۱	٪ ۱/۷
جراحی دریچه آئورت	۱	٪ ۳/۷	۰	۰	۱	٪ ۱/۷
زایمان	۱	٪ ۳/۷	۰	۰	۱	٪ ۱/۷
زیبایی و لیپوساکشن	۳	٪ ۱۱/۱	۰	۰	۳	٪ ۵



نمودار ۲: درصد فراوانی علت بستری بیماران



نمودار ۳: الگوی مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی برحسب نوع آنتی بیوتیک

جدول ۵: توزیع فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ۶۰ ایزوله اسپینتوباکتر بومانی برحسب نوع آنتی‌بیوتیک

آنتی بیوتیک	مقاوم		نیمه حساس		حساس	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
آمپی سیلین	۵۹	۹۸/۳٪	۰	۰	۱	۱/۷٪
سفتوتاکسیم	۵۸	۹۶/۷٪	۰	۰	۲	۳/۳٪
کلرامفنیکل	۵۸	۹۶/۷٪	۰	۰	۲	۳/۳٪
سفتریاکسون	۵۸	۹۶/۷٪	۰	۰	۲	۳/۳٪
سفتازیدیم	۵۸	۹۶/۷٪	۱	۱/۷٪	۱	۱/۷٪
مروپنم	۵۸	۹۶/۷٪	۰	۰	۲	۳/۳٪
تیکارسیلین	۵۸	۹۶/۷٪	۰	۰	۲	۳/۳٪
جتنامایسین	۵۷	۹۵٪	۰	۰	۳	۵٪
سیپروفلوکساین	۵۶	۹۳/۳٪	۰	۰	۴	۶/۷٪
باکتریم	۵۶	۹۳/۳٪	۰	۰	۴	۶/۷٪
سفیپم	۵۵	۹۰٪	۱	۱/۷٪	۴	۶/۷٪
پپراسیلین	۵۵	۷٪	۱	۱/۷٪	۴	۶/۷٪
آمیکاسین	۴۷	۷۸/۳٪	۰	۰	۱۳	۲۱/۷٪
توبرامایسین	۴۷	۷۸/۳٪	۰	۰	۱۳	۲۱/۷٪
کولیستین	۲۱	۳۵٪	۲	۳/۳٪	۳۷	۶۱/۷٪

جدول ۶: نتایج تست مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها به تفکیک جنسیت

جنس	حساس		نیمه حساس		مقاوم	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
زن	۲۰	۴۲٪	۳	۶٪	۲۵	۵۲٪
مرد	۲۳	۴۰٪	۲	۳٪	۳۳	۵۷٪
کل	۴۳	۴۰٪	۵	۵٪	۵۸	۵۵٪

## نتایج تست مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها به تفکیک جنسیت

از بین ۶۰ ایزوله جمع آوری شده، ۲۷ مورد از بیماران زن و ۳۳ مورد از بیماران مرد بدست آمد. در این بین بیشترین درصد مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در بین ایزوله‌های به دست آمده از مردان (۵۷٪) و بیشترین حساسیت (۴۲٪) در زنان مشاهده شد (جدول ۶).

## فراوانی ژن‌های سیستم توکسین-آنتی توکسین

نتایج PCR جهت شناسایی سویه‌های حاوی ژن‌های *MazEF*، *relBE* و *higBA* نشان داد که از ایزوله‌ها از بین ۶۰ ایزوله بدست آمده ۲۴ نمونه (۴۰ درصد) برای ژن *MazEF*، ۳۵ نمونه (۵۸/۳۳ درصد) برای ژن *relBE* و ۳۲ نمونه (۵۳/۳۳ درصد) برای ژن *higBA* مثبت بودند و ۶ ایزوله (۱۰٪) برای هر سه ژن یاد شده منفی بودند (نمودار ۴) و باعث تولید محصولات در اندازه‌های مورد انتظار شد.



است. (جدول ۹).

### فراوانی ژنهای مورد بررسی به تفکیک نتایج آنتی بیوگرام

طبق نتایج بدست آمده در جدول ۱۰ هرچه میزان تعداد ایزوله های حاوی ژنهای سیستم توکسین- آنتی توکسین بیشتر بوده، مقاومت به آنتی بیوتیک مورد بررسی، بیشتر مشاهده شده است. در واقع ارتباط معناداری بین حضور این ژن ها و مقاومت آنتی بیوتیکی بدست آمد. برای کولیستین که کمترین میزان مقاومت نسبت این آنتی بیوتیک مشاهده شد، تعداد ایزوله های کمتری دارای این ژن ها بودند (سطح معنی داری ۰/۸۳۴). طبق نتایج یک ایزوله نیمه حساس به دو آنتی بیوتیک سفنازیدیم و کولیستین حاوی هر دو ژن *higBA* و *relBE* در بود. یک ایزوله نیمه حساس به سفیم فقط حاوی *higBA* و یک ایزوله نیمه حساس به پیپراسیلین دارای هر سه ژن بود (سطح معنی داری ۰/۶۹۱). بیشترین تعداد ایزوله های حساس حاوی سه ژن مورد بررسی در بین آنتی بیوتیک ها مربوط به کولیسین به ترتیب با ۲۱، ۱۸ و ۱۹ تعداد ایزوله های ژنهای *relBE*، *mazEF* و *higBA* بود (سطح معنی داری ۰/۸۷۵).

که در الکتروفورز بر روی ژل آگارز به صورت باندهایی در محدوده های ۴۳۶bp و ۵۷۸ bp و ۴۴۰ bp به ترتیب برای *relBE*، *mazEF* و *higBA* آشکار شدند که با اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۴).

### فراوانی ژنهای مورد بررسی به تفکیک نوع نمونه

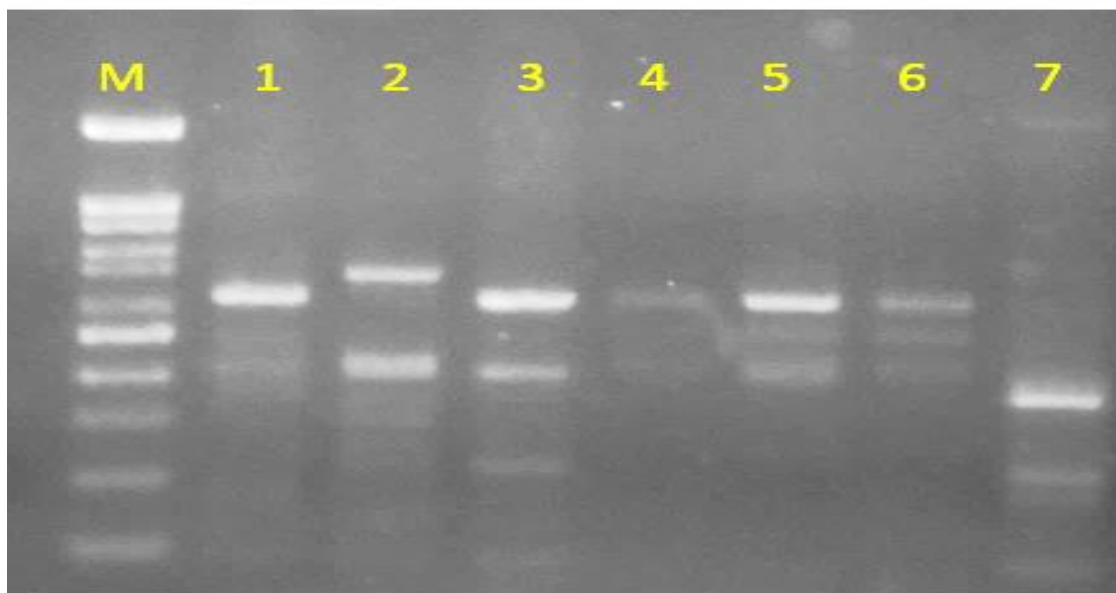
بیشترین تعداد نمونه مربوط به نمونه های نای برای هر سه ژن *relBE* (۱۸ نمونه)، *mazEF* (۸ نمونه) و *higBA* (۱۵ نمونه) بود (جدول ۷).

### فراوانی ژنهای مورد بررسی به تفکیک بخش بستر

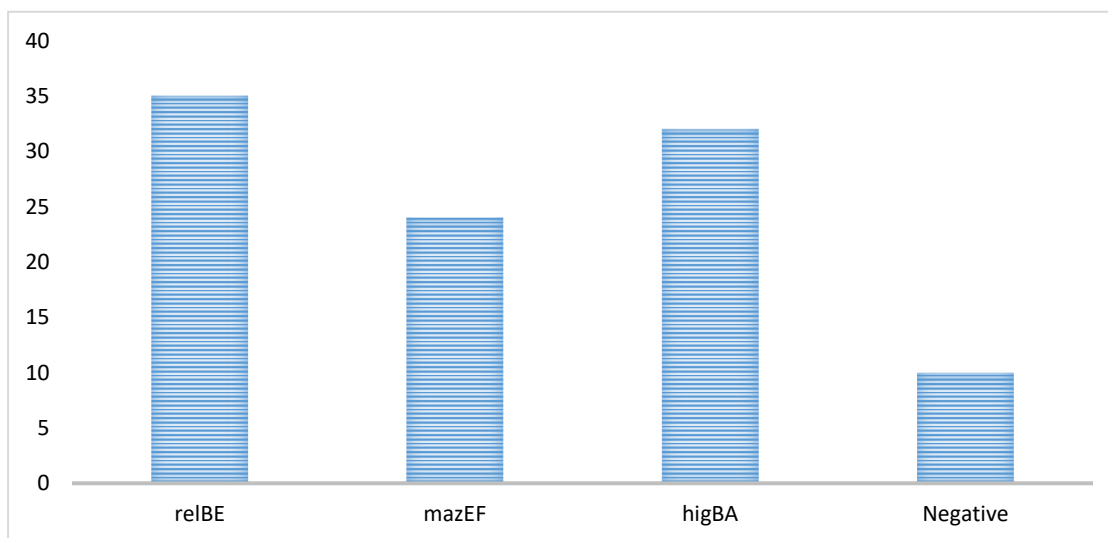
بیشترین تعداد نمونه مربوط به نمونه های ICU جنرال برای هر سه ژن *relBE* (۱۵ نمونه)، *mazEF* (۱۰ نمونه) و *higBA* (۱۱ نمونه) بود (جدول ۸).

### فراوانی ژنهای سیستم توکسین-آنتی توکسین به تفکیک جنسیت

با توجه به نتایج فراوانی ژن ها در بین مردان بیشتر از زنان بوده



شکل ۴: نتایج الکتروفورز تست مولکولی نمونه های ۱، ۲ و ۷ دارای ژن *mazEF*، نمونه های ۲ تا ۵ و ۷ دارای ژن *relBE* و نمونه های ۱، ۲، ۴، ۵ و ۷ دارای ژن *higBA*، M مارکر ۱۰۰ جفت بازی



نمودار ۴: فراوانی ژن‌های مورد بررسی

جدول ۷: فراوانی ژن‌های مورد بررسی به تفکیک نوع نمونه

نوع نمونه	تعداد باکتری	درصد	فراوانی ژنها		
			relBE	mazEF	higBA
زیربغل	۲	٪ ۳/۳	۰	۲	۰
کشت خون	۲	٪ ۳/۳	۱	۰	۲
CVP	۱	٪ ۱/۷	۰	۱	۰
EVD از CSF	۱	٪ ۱/۷	۱	۰	۱
کشاله ران	۱	٪ ۱/۷	۰	۱	۱
نازال	۲	٪ ۳/۳	۱	۲	۰
خلط سینه	۵	٪ ۸/۲	۳	۴	۴
گلو	۶	٪ ۱۰	۳	۱	۱
نای	۲۸	٪ ۴۶/۶	۱۸	۸	۱۵
کشت ادرار	۴	٪ ۶/۷	۵	۱	۴
استرنوم	۱	٪ ۱/۷	۰	۰	۱
ترشحات محل تراکستومی	۱	٪ ۱/۷	۰	۱	۰
درن شکمی	۱	٪ ۱/۷	۰	۱	۰
زخم سینه	۱	٪ ۱/۷	۰	۱	۰
زخم شکم	۲	٪ ۳/۳	۱	۱	۲
سوند فولی	۱	٪ ۱/۷	۱	۰	۰
قسمت بیرونی کاتاتر شالدون از دهلیز	۱	٪ ۱/۷	۱	۰	۱

۰/۹۳۶

جدول ۸: فراوانی ژن های مورد بررسی به تفکیک نوع بخش بستری

بخش	فراوانی ژنوتیپ TA			سطح معنی-داری
	higBA	mazEF	relBE	
ICU جنرال	۱۱	۱۰	۱۵	
ICU قلب	۴	۲	۲	
NICU	۱	۰	۳	
اطفال	۱	۰	۱	
جراحی ۱	۷	۷	۷	۰/۸۷۴
جراحی ۲	۱	۰	۱	
جراحی ۴	۲	۲	۳	
داخلی ۱	۴	۳	۳	
CCU	۱	۰	۰	

جدول ۹: فراوانی ژن های مورد بررسی به تفکیک جنسیت

جنسیت	تعداد و درصد ژن ها						نمونه باکتری	
	higBA		mazEF		relBE		تعداد	درصد
زن	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
	۱۵	٪ ۲۵	۱۰	٪ ۱۶/۶۶	۱۶	٪ ۲۶/۶۶	۲۷	٪ ۴۵
مرد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
	۱۷	٪ ۲۸/۳۳	۱۴	٪ ۲۳/۳۴	۱۹	٪ ۳۱/۶۷	۳۳	٪ ۵۵
جمع	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
	۳۲	٪ ۵۳/۳۳	۲۴	٪ ۴۰	۳۵	٪ ۵۸/۳۳	۶۰	٪ ۱۰۰

جدول ۱۰: فراوانی ژنهای مورد بررسی به تفکیک آنتی بیوتیک‌های مقاوم، نیمه حساس، حساس

آنتی بیوتیک	فراوانی ژن‌ها در نمونه‌های مقاوم			فراوانی ژن‌ها در نمونه‌های نیمه حساس			فراوانی ژن‌ها در نمونه‌های حساس		
	معنی -			معنی -			معنی -		
	higBA	mazEF	relBE	higBA	mazEF	relBE	higBA	mazEF	relBE
آمپی سیلین	۳۴	۲۴	۳۱	۰/۶۹۱	۰	۰	۰/۸۷۵	۰	۱
سفتوتاکسیم	۳۴	۲۴	۳۱	۰	۰	۰	۰	۱	
کلرامفنیکل	۳۳	۲۳	۳۰	۰	۰	۰	۱	۲	
سفتریاکسون	۳۳	۲۳	۰	۰	۰	۰	۱	۲	
سفتازیدیم	۳۳	۲۴	۳۰	۱	۰	۱	۰	۱	
مروپنم	۳۳	۲۳	۳۰	۰	۰	۰	۱	۲	
تیکارسیلین	۳۴	۲۴	۳۱	۰	۰	۰	۰	۱	
جتنامایسین	۳۲	۲۳	۲۹	۰	۰	۰	۱	۳	
سیپروفلوکساین	۳۱	۲۲	۲۸	۰	۰	۰	۲	۴	
باکتریم	۳۱	۲۲	۲۸	۰	۰	۰	۲	۴	
سفپیم	۳۳	۲۲	۲۸	۱	۰	۰	۲	۳	
پیراسیلین	۳۲	۲۲	۲۹	۱	۱	۱	۱	۲	
آمیکاسین	۲۸	۲۱	۲۳	۰	۰	۰	۳	۹	
توبرامایسین	۲۸	۲۰	۲۵	۰	۰	۰	۴	۷	
کولیستین	۱۳	۶	۱۲	۱	۰	۱	۱۸	۱۹	
ایمپینم	۳۳	۲۳	۳۰	۰	۰	۰	۱	۲	

## بحث و نتیجه گیری

بررسی سیستم توکسین-آنتی توکسین در اسپیتوباکترهای دارای مقاومت چنددارویی جدا شده از نمونه‌های کلینیکی انجام شده است. در هر منطقه‌ای شناسایی و بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی از مهمترین عوامل جلوگیری از گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی به شمار می‌رود.<sup>۱۲</sup> انتخاب آنتی بیوتیک‌های مناسب بر اساس آنتی بیوگرام نقش مهمی در درمان و جلوگیری از گسترش مقاومت دارویی دارد. تاکنون مقاومت چند دارویی بزرگترین چالش در مدیریت بیماری‌های عفونی بوده است. مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌ها از طریق جهش در سایت‌های هدف یا کسب ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی از سایر

عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌شود. اگرچه مطالعات در مورد تولید آنتی-بیوتیک‌های جدید به سرعت در حال پیشرفت است، با این حال شناسایی اهداف دارویی جدید در میکروب‌ها نیز برای کنترل موثر عفونت بسیار مهم است. در حال حاضر، به نظر می‌رسد مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی مسئله‌ای مشکل ساز در سراسر جهان است. بنابراین، یافتن آنتی بیوتیک‌های جدید به عنوان یک استراتژی برای ادامه آنتی بیوتیک درمانی، فوری به نظر می‌رسد.<sup>۱۱</sup> از راهکارهای مقابله با مقاومت آنتی بیوتیکی می‌تواند طراحی آنتی‌باکتریایی باشد که سیستم‌های TA را هدف قرار دهد. به طور کلی مولکول‌های توکسین به عنوان تنظیم کننده‌های منفی در بقای

های بررسی شده مقاوم بودند (بجز در مورد آنتی بیوتیک کولیستین که تقریباً زیر ۴۰ درصد بود). بنابراین نمی‌توان ارتباط بین ژن‌های سیستم TA و مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نادیده گرفت. همانطور که اشاره شد طبق نتایج مطالعات سیستم های توکسین-آنتی توکسین مرتبط با ژن های مقاومت باکتریایی نقش مهمی در حفظ مقاومت ضد میکروبی دارند.<sup>۱۶، ۱۹</sup>

در مطالعه Marjania و همکاران ژن های *mazEF* و *relBE* در هیچ یک ایزوله‌های *اسیتوباکتریومانی* وجود نداشت و آنالیز PCR برای DNA پلاسمیدی هیچ گونه آمپلیفیکیشن مثبتی نشان نداد، که نشان می‌دهد در *اسیتوباکتر بومانی* سیستم های TA با واسطه کروموزومی بودند.<sup>۲۰</sup>

مطالعات مختلفی بر روی انواع دیگر باکتریها انجام شده است مانند در مطالعه سواری و همکاران در سال ۲۰۱۶، که نشان داد ۱۷۴ ایزوله *سودوموناس آنروژینوزا* جدا شده از نمونه‌های بالینی دارای ژن‌های *RelBE*، *higBA* و *parDE* به ترتیب با نرخ ۱۰۰ درصد، ۱۰۰ درصد و ۳۰ درصد در ایران بودند.<sup>۱۳</sup> مطالعه کریمی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ نشان داد که ۸۵٪ و ۹۱٪ ایزوله‌های بالینی *ای.کولای* به ترتیب از مجموع ۱۵۰ DNA کروموزومی دارای مکان‌های *mazEF* و *relBE* هستند.<sup>۲۱</sup>

در مطالعه دیگری بر روی *اشریشیا کلی* و *سینوباکتریوم آنابنا* توسط نینگ و همکاران (۲۰۱۳)، نتایج مشابهی به دست آمد که عملکرد سیستم *mazEF* TA را نشان می‌دهد.<sup>۲۲</sup> موریتس و هرگرتور (۲۰۰۷) با ارزیابی ۱۰ ایزوله مقاوم در برابر وانکومایسین انتروکوک عملکرد *mazEF* را با استفاده از RT-PCR نشان دادند و دریافتند که مکان های *mazEF* TA در هر ۱۰ ایزوله رونویسی می‌شوند.<sup>۲۳</sup> در مطالعه حاضر از ۶۰ ایزوله مورد بررسی، ۵۹ ایزوله (۹۸/۳۴ درصد) به بیش از ۸ آنتی بیوتیک مقاوم بودند و فقط ۱ نمونه (۱/۶۶ درصد) ایزوله شده از کشت ادرار (u.c) بیمار بستری شده در بخش ICU جنرال به دلیل مشکل تنفسی به همه آنتی بیوتیک‌های مورد بررسی حساس بود.

همسو با نتایج بدست آمده، در مطالعه رحیمی و همکاران نیز ۹۸ درصد سویه‌های *اسیتوباکتر بومانی* به ۳ کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاومت نشان دادند و به عنوان سویه‌های MDR انتخاب شدند.<sup>۲۴</sup> همچنین در مطالعه اردبیلی و همکاران نیز مشخص شد به طور کلی ۵۴ درصد

سلول عمل می‌کنند و مولکول های آنتی‌توکسین به عنوان تنظیم-کننده‌های مثبت عمل می‌کنند. در شرایط استرس، فعل و انفعالات بین میزان بیان مولکول‌های توکسین و آنتی‌توکسین برای زندگی باکتری‌ها حیاتی است. بنابراین، این سیستم‌ها اهداف بالقوه‌ای برای توسعه عوامل ضد میکروبی جدید در نظر گرفته می‌شوند.<sup>۱۳</sup>

این سیستم بتازگی و خصوصاً به عنوان هدف داروهای ضد میکروبی مورد توجه ویژه قرار گرفته است. مطالعات متعددی عملکرد سیستم های TA را در تثبیت پلاسمیدهایی که ژن‌های مقاومت را در پاتوژن‌های بالینی حمل می‌کنند مورد تجزیه و تحلیل قرار داده‌اند. با این حال، نقش سیستم‌های TAc در زندگی پاتوژن‌های باکتریایی بیمارستانی (ESKAPE) به خوبی شناخته نشده است.<sup>۱۴</sup>

در مقاله مروری گردز و همکاران. مقاومت *ای.کولای* به عنوان یک ارگانسیم مدل را به سیستم TA نوع II ارتباط دادند. به طورخاص، این نویسندگان اظهار داشتند که حذف مکان TA نوع II بطور قابل توجهی سطح پایداری و مقاومت را کاهش می‌دهد.<sup>۱۵، ۱۶</sup> با این حال، کلدکین-گالو همکاران دخالت سیستم‌های *MazF* / *MazE* و *YafQ* / *DinJ* TA را در مرگ سلولی و مشارکت در تشکیل بیوفیلم به روش جدید را مطالعه کردند که مکانیسم (ها) همچنان ناشناخته باقی مانده است.<sup>۱۶-۱۷</sup>

باکتری‌ها اغلب بیش از یک سیستم TA در ژنوم خود دارند. وجود و نوع سیستم های TA و اینکه آنها بر روی پلاسمید رمزگذاری شده‌اند یا روی کروموزوم، بین باکتری‌ها متفاوت است. *mazEF* یک اپرون است که "سیستم اعتیاد به پلاسمید" نامیده می‌شود و پلاسمیدها را تثبیت می‌کند و *RelBE* پاسخ ناشی از موارد کمبود اسید آمینه را تعدیل می‌کند، که منجر به مهار ترجمه و در نتیجه باکتریوز می‌شود.<sup>۱۸</sup> در مطالعه حاضر به بررسی فراوانی ژن‌های سیستم توکسین-آنتی توکسین *mazEF*، *relBE* و *higBA* در ۶۰ ایزوله *اسیتوباکتر بومانی* بدست آمده پرداخته شد. در نتایج به دست آمده ۴۰ درصد نمونه‌ها برای ژن *mazEF*، ۵۸/۳۳ درصد برای ژن *relBE* و ۵۳/۳۳ درصد برای ژن *higBA* مثبت بودند و ۱۰ درصد برای هر سه ژن یاد شده منفی بودند. بطور کلی میتوان گفت تقریباً نیمی از ایزوله های مورد بررسی دارای ژنهای بررسی شده بودند.

در همه نمونه‌ها تقریباً در هر یک از ژنهای مورد بررسی، بیشتر از ۸۰ درصد ایزوله‌های حاوی هر یک از این ژن‌ها به آنتی بیوتیک

مقاومت به آمپی‌سیلین (۹۸/۳ درصد) و کمترین میزان مقاومت نسبت به کولیستین (۳۵ درصد) بود. ایزوله‌های باکتری به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی مقاومت چشمگیری داشتند. همچنین در مطالعه حاضر مشخص شد که رونوشت *higBA* *mazEF* و *relBE* در تقریباً نیمی از سویه‌های بررسی شده اسیتوباکتر بومانی جود دارد. این مطالعه از اولین پژوهش‌های بررسی کننده رابطه بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و سیستم TA در اسیتوباکتر بومانی بود. در همه نمونه‌ها تقریباً بیشتر از ۸۰٪ ایزوله‌های حاوی هر یک از این ژن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده مقاوم بودند (بجز در مورد آنتی‌بیوتیک کولیستین که تقریباً زیر ۴۰٪ بود). بیشترین میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک کولیستین بود که کمترین تعداد ایزوله‌های حاوی سه ژن مورد بررسی را داشت.

از ایزوله‌ها حداقل نسبت به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاومت MDR نشان دادند<sup>۲۰</sup>. یافته‌های *Al Marjania* و همکاران در مورد پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی نشان داد که میزان مقاومت چند دارویی (MDR) بالا (۹۶/۰۶٪) و مقاومت بالا به ایمی پنم (۸۴/۲۵٪) در ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی وجود دارد.<sup>۲۰</sup>

## نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه نشان داد اکثر سویه‌های اسیتوباکتر بومانی جدا شده نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها شامل آمینوگلیکوزیدها (جتتامایسین، آمیکاسین)، سفنازیدیم، فلوروکینولونها (سپیروفلوکساسین) و کارباپنم‌ها (ایمپنم و مروپنم) مقاومت نشان می‌دهند. بیشترین میزان

## References

- Harding CM, Hennon SW, Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology* 2018;16(2): 91
- Soltani B, Heidari H, Ebrahim-Saraie HS, et al. Molecular characteristics of multiple and extensive drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates obtained from hospitalized patients in Southwestern Iran. *Le infezioni in medicina: rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive* 2018;26(1): 67-76
- Peleg A, Seifert H, Paterson D. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *CMR*. 21: 538-582. 2008.
- Ghafourian S, Good L, Sekawi Z, et al. The *mazEF* toxin-antitoxin system as a novel antibacterial target in *Acinetobacter baumannii* %J *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2014;109: 502-5.
- Cherny I, Overgaard M, Borch J, Bram Y, Gerdes K, Gazit EJB. Structural and Thermodynamic Characterization of the *Escherichia coli* RelBE Toxin-Antitoxin System: Indication for a Functional Role of Differential Stability 2007;46(43):12152-63.
- Adams-Haduch JM, Paterson DL, Sidjabat HE, Pasculle AW, Potoski BA, Muto CA, et al. Genetic basis of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates at a tertiary medical center in Pennsylvania. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2008;52(11):3837-43.
- Mak JK, Kim M-J, Pham J, Tapsall J, White PA. Antibiotic resistance determinants in nosocomial strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2008;63(1):47-54.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical microbiology reviews* 2008;21(3):538-82.
- Buchanan RE, Gibbons NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th, editor: Baltimore: Williams & Wilkins; 1974. 850 p.
- Weinstein MP, Limbago B, Patel J, Mathers A, Campeau S, Mazzulli T, et al. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI; 2018.
- Ghafourian S, Good L, Sekawi Z, Hamat RA, Soheili S, Sadeghifard N, et al. The *mazEF* toxin-antitoxin system as a novel antibacterial target in *Acinetobacter baumannii* 2014;109(4):502-5.
- Karimi F, Amini K, Javadi G. A Phenotypic and Genotypic Study of Colistin *arn* Resistance Regulator Gene Classes in *Acinetobacter Baumannii* isolated from Clinical Cases using Multiplex PCR. *Biological Journal of Microorganism* 2020.
- Savari M, Rostami S, Ekrami A, Bahador AJJjom. Characterization of toxin-antitoxin (TA) systems in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Iran 2016;9(1).
- Kim Y, Wang X, Ma Q, Zhang X-S, Wood TKJJob. Toxin-antitoxin systems in *Escherichia coli* influence

- biofilm formation through YjgK (TabA) and fimbriae 2009;191(4):1258-67.
15. Gerdes K, Maisonneuve EJArom. Bacterial persistence and toxin-antitoxin loci. 2012;66:103-23.
  16. Kolodkin-Gal I, Verdiger R, Shlosberg-Fedida A, Engelberg-Kulka HJPO. Correction: A differential effect of E. coli toxin-antitoxin systems on cell death in liquid media and biofilm formation 2015;10(10):e0140184.
  17. Fernández-García L, Blasco L, Lopez M, Bou G, García-Contreras R, Wood T, et al. Toxin-antitoxin systems in clinical pathogens 2016;8(7):227.
  18. Coussens NP, Daines DAJEB, Medicine. Wake me when it's over-bacterial toxin-antitoxin proteins and induced dormancy 2016;241(12):1332-42.
  19. Lemos JA, Brown Jr TA, Abranches J, Burne RAJFml. Characteristics of Streptococcus mutans strains lacking the MazEF and RelBE toxin-antitoxin modules 2005;253(2):251-7.
  20. Al Marjania MF, Kouhsari E, Ali FS, Authman SHJIdt. Evaluation of type II toxin-antitoxin systems, antibiotic resistance profiles, and biofilm quorum sensing genes in Acinetobacter baumannii isolates in Iraq. 2020.
  21. Karimi S, Ghafourian S, Kalani MT, Jalilian FA, Hemati S, Sadeghifard NJJjom. Association between toxin-antitoxin systems and biofilm formation 2015;8(1).
  22. Ning D, Jiang Y, Liu Z, Xu QJPO. Characterization of a chromosomal Type II toxin-antitoxin system mazEaFa in the cyanobacterium Anabaena sp. PCC 7120. 2013;8(2):e56035.
  23. Moritz EM, Hergenrother PJJPotNAoS. Toxin-antitoxin systems are ubiquitous and plasmid-encoded in vancomycin-resistant enterococci 2007;104(1):311-6.
  24. Rahimi N, Honarmand Jahromy S, Zare Karizi SJIJoMM. Evaluation of Antibiotic Resistance Pattern of Meropenem and Piperacillin-Tazobactam in Multi Drug Resistant Acinetobacter baumannii Isolates by Flow Cytometry Method 2019;13(3):194-209.
  25. Ardebili A, Lari AR, Talebi MJAolm. Correlation of ciprofloxacin resistance with the AdeABC efflux system in Acinetobacter baumannii clinical isolates 2014;34(6):433-8.

Marziyeh sadat amini<sup>1</sup>, Majid baserisalehi<sup>2\*</sup>, Nima bahador<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Phd Student. Department of Microbiology, college of science, Kazeroun branch, Islamic Azad University, Kazeroun

<sup>2\*</sup>Associate prof. Department of Microbiology, college of science, Kazeroun branch, Islamic Azad University, Kazeroun, Iran

<sup>3</sup>Associate prof. Department of science. Microbiology, college of science, shiraz branch, Islamic Azad University, shiraz, Iran

## Evaluation of Toxin and Antitoxin System in Acinetobacter Multidrug Resistance Bacteria Isolated From Clinical Specimens

Received: 5 Apr 2021 ; Accepted: 18 Jan 2022

### Abstract

**Introduction:** Acinetobacter baumannii is one of the most important nosocomial and community-acquired pathogens that is resistant to many antibiotics. Toxin-antitoxin systems are regulatory systems that maintain bacteria and serve as new targets for Antimicrobial therapies are considered. The prevalence and transcription of these systems in clinical isolates is still unknown. The aim of this study was to evaluate the toxin-antitoxin system (mazEF, relBE and higBA) in Acinetobacter baumannii with multidrug resistance isolated from clinical specimens.

**Methods:** In this study, 60 isolates of Acinetobacter species were collected from 255 clinical specimens. Acinetobacter baumannii was identified by biochemical tests of oxidase, citrate, SIM and TSI. Antimicrobial susceptibility testing was performed by discard method and PCR method to identify genes in the toxin-antitoxin system (mazEF, relBE and higBA).

**Results:** The highest resistance to ampicillin (98.3%) and the lowest resistance to colistin (35%). Resistance of more than 90% was observed in 12 antibiotics out of 15 antibiotics studied. Out of 60 isolates, 98.34% were resistant to more than 8 antibiotics and only one sample was sensitive to all. The mazEF, higBA, and relBE versions were present in approximately half of the Acinetobacter baumannii isolates studied. In all samples, more than 80% of the isolates containing each of the mazEF, higBA, and relBE genes were resistant to the antibiotics tested (with the exception of colistin, which was approximately 40%). The frequencies of mazEF, higBA and relBE genes were 24 (40%), 32 (53.33%), 35 (53.33%), respectively. 6 isolates (10%) were negative for all three genes.

**Conclusion:** Significant antibiotic resistance was observed among the isolates. Based on the presence of TA systems in half of A. baumannii isolates, these could be used as a novel target for antimicrobial therapy.

**Keywords:** Antibiotic resistance, Toxin-Antitoxin system, Acinetobacter baumannii

**\*Corresponding Author:**

Associate prof. Department of Microbiology, college of science, Kazeroun branch, Islamic Azad University, Kazeroun, Iran

Tel: 09171557862  
Email:majidbaserisalehi682@gmail.com