AUMJ
Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم پزشکی البرز، بهار ۱۴۰۰، سال ۱۰، شماره ۲، صفحه‌های ۲۴۱- ۲۴۸
مقاله تحقیقی

ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی پمپ افلاکس(adeAB,abeM)سویه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی مقاوم به سیپروفلوکساسین و جنتامیسین

مهرانه اردستانی[1]، فاطمه نوربخش[1*]، رابعه خوشنویس زاده[2]

[1] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین- پیشوا، ایران
[2] گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین- پیشوا، ایران

تاریخ دریافت مقاله:۹۸/۵/٤ تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۲۵

چکیده

مقدمه: *اسینتوباکتربومانی* به دلیل توانایی بالا درکسب ژن های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ایجاد سویه های مقاوم به چند دارو (MDR) اهمیت ویژه ای دارد. امروزه پمپ های افلاکس فعال به عنوان یکی از مهمترین مکانیسم های مقاومت ذاتی و اکتسابی آنتی بیوتیکی در باکتری‌ها مطرح شده اند. هدف از این تحقیق بررسی بیان فنوتیپی و ژنوتیپی پمپ افلاکس سویه‌های بالینی *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به سیپروفلوکساسین و جنتامیسین می‌باشد.

روش کار: ۲۸سویه اسینتوباکتر بومانی از نمونه زخم و تراشه بیماران بستری در بیمارستان قلب تهران جدا شد و با آزمون‌های بیوشیمیایی تشخیص داده شدند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش انتشار دیسک بر اساس استاندارد CLSI تعیین شد. تعیین فعالیت فنوتیپی پمپ افلاکس به روش کارت ویل انجام شد و بعد از تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی میزان بیان ژن‌های adeA،adeB و abeM با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز معکوس بررسی گردید.

نتایج : تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی نشان داد تمام سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، جنتامیسین، تتراسایکلین و ایمیپنم مقاوم بودند. نتایج کارت ویل قبل و بعد از اثر دادن آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و جنتامیسین یکسان بود. میزان بیان ژنهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی پمپ افلاکسadeA، adeB وabeM حدود ۵۰٪ مشاهده شد.

نتیجه گیری:بررسی نتایج فنوتیپی افلاکس و میزان بیان ژن‌های پمپ افلاکس نشان داد که بین پمپ افلاکس به روش فنوتیپی و روش مولکولی بیان ژن‌های adeA،adeB وabeMدر حضور دو آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و جنتامیسین ارتباط معنی داری وجود ندارد.

کلمات کلیدی: *اسینتوباکتربومانی*، مقاومت چند دارویی، ژن ها، سیپروفلوکساسین، جنتامیسین

نویسنده مسئول:
گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد

۰۹۱۲۲۰۴۳۶۵۴
E-mail: *niloofar_noorbakhsh@yahoo.com*

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/aums.10.2.241]

[DOI: 10.29252/aums.10.2.241] [Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-10]

مقدمه

اسینتوباکتربومانی یک کوکوباسیل گرم منفی غیرتخمیرکننده اکسیداز منفی و فاقد حرکت است[۱]. براساس طبقه بندی علمی اسینتوباکتر بومانی متعلق به خانواده موراکسلاسه و راسته سودومونادال‌ها [۲] و متعلق به کلاس Gammaproteobacteria است[۳]. این باکتری یک پاتوژن فرصت طلب در انسان است و در افراد دارای نقص ایمنی شدیدا بیماری زا بوده و باعث ایجاد عفونت‌های بیمارستانی میشود و تقریبا به طور انحصاری از محیط‌های بیمارستانی جدا شده است[٤]. همچنین باعث عفونت‌های فرصت طلب مانند پنومونی مرتبط با دستگاه تهویه، عفونت‌های پوستی و بافت‌های نرم، باکتریمی، عفونت‌های دستگاه ادراری و سپتی سمی می‌شود[٥]. به علت بالا بودن سرعت دستیابی به عوامل ایجاد کننده مقاومت در برابر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک ها[٦] یکی از مشکلات ایجاد شده توسط اسینتوباکتر بومانی بروز مقاومت چند دارویی می‌باشد[۷]. به طور کلی چندین فاکتور در ایجاد مقاومت در این باکتری دخیل هستند از جمله: پمپ‌های تراوشی ایجاد کننده مقاومت، پروتئین‌های غشا خارجی، تولید بتالاکتامازها وتولید آنزیم‌های تغییر دهنده آمینوگلیکوزیدها می‌باشند[۸]. پمپ‌های افلاکس باکتریایی پروتئین‌هایی هستند که در غشا پلاسمایی باکتری قرار دارند و عملکرد آنها تشخیص عوامل مضری است که به دیواره سلولی باکتری و سیتوپلاسم نفوذ کرده و آنها را قبل از رسیدن به اهداف مورد نظر خود از سلول خارج میکنند[۹]. از مهم ترین پمپ‌های تراوشی که در ایجاد مقاومت در اسینتوباکتر بومانی نقش دارند پمپ تراوشی RND میباشد[۱۰] که تاکنون سه نوع پمپ تراوشی سه جزئی از این دسته به نام‌های adeABC adeIJK adeFGH, در اسینتوباکتربومانی شناسایی شده است[۱۱]. adeABC اولین ومهم ترین پمپ افلاکس شناخته شده است که نوعی حمل کننده چند دارویی وابسته به ATP است در این پمپ‌های خروجی (افلاکس) عوامل ضد میکروبی میتوانند از طریق استفاده از نیروی محرکه پروتون از سلول خارج شوند[۱۲].

پمپ تراوشی سه جزئی adeABC از پروتئین غشای خارجی کد شونده توسط ژن adeC، پروتئین فیوژن غشا کد شونده توسط ژن adeA و پروتئین غشا داخلی کد شونده توسط ژن adeB تشکیل شده است[۱۰].آنتی بیوتیک‌های متعددی از جمله آمینوگلیکوزیدها، تتراسایکلین‌ها، فلوروکینولون‌ها، تری‌متوپریم و کلرامفنیکل به عنوان سوبستراهای سیستمadeABC مطرح میشود[۱۳]. abeM یکی دیگر از پمپ‌های افلاکس چند دارویی متعلق به خانواده MATE در اسینتوباکتر بامانی میباشد[۱٤]. سوبستراهای این پمپ شامل جنتامیسین، سیپروفلوکساسین، اریترومایسین و تری‌متوپریم می‌باشد[۱٥]. نیک آسا نشان داد در حضور ماده مهارکننده پمپ های افلاکس میزان MICدر سویه های اسینتوباکتربامانی جدا شده از نمونه های بیمارستانی شهر تهران کاهش می یابد[۱٦].Wong با بررسی ایزوله های مقاوم به کارباپنم نشان دادند که حضور ژنهای adeABC نقش مهمی در مقاومت سویه های اسینتوباکتربامانی دارد[۱۷].Huang نشان داد افزایش بیان پمپ افلاکسadeABC نقش مهمی در کاهش حساسیت به مروپنم ایفا میکند[۱۸].

هدف از این تحقیق بررسی بیان فنوتیپی و ژنوتیپی پمپ افلاکس سویه‌های بالینی اسینتوباکتر بومانی مقاوم به سیپروفلوکساسین و جنتامیسین می‌باشد.

مواد وروش ها

نمونه گیری کشت و جداسازی جدایه ها

این مطالعه بر روی ۲۸ سویه اسینتوباکتر بومانی ایزوله شده از نمونه‌های بالینی بیماران بستری در بخش مراقبت ویژه بیمارستان قلب تهران انجام گرفت. نمونه‌های بالینی مورد مطالعه مربوط به نمونه‌های زخم و تراشه بیماران بودند. نمونه‌های بالینی به آزمایشگاه انتقال داده شد و سپس هر نمونه روی محیط‌های بلادآگار و مک کانکی آگار کشت داده شدند. کشت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد نگه داری شدند. سپس تست‌های افتراقی(اوره از، MRVP، SIM، OF، TSI و همچنین تست‌های کاتالاز، اکسیداز، سیمون سیترات،بایل اسکولین و لایزین) جهت تشخیص گونه‌های مختلف اسینتوباکتر انجام شد.

تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی

برای این منظور از روش انتشار دیسک مطابق با دستورالعمل موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینیCLSI استفاده شد.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/aums.10.2.241]

حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، ایمیپنم (۱۰ میکروگرم)، جنتامیسین(۱۰میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، (شرکت پاتن طب ایران) بررسی شد. به این منظورابتدا از باکتری‌های مورد مطالعه سوسپانسیونی با کدورتی برابر با کدورت نیم مک فارلند تهیه شد، سپس به کمک سوآپ از سوسپانسیون میکروبی برداشته و در تمام جهات روی محیط مولر هینتون آگار به صورت روش متراکم (چمنی) کشت داده شد، سپس به کمک پنس استریل، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی در سطح پلیت قرار داده شده به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در انکوباتور در ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. بعد با استفاده از یک خط کش، قطر هاله عدم رشد را بر حسب میلی متر اندازه گرفته و بر طبق استاندارد CLSI(۲۰۱۷) باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش شدند. از سویه استاندارد آسینتوباکتر بومانی(ATCC19606) به عنوان سویه کنترل کیفی استفاده شد.

بررسی فنوتیپی فعالیت پمپ افلاکس باروش کارت ویل

به منظور بررسی فعالیت پمپ‌های افلاکس به صورت فنوتیپی تمامی سویه‌های اسینتوباکتربومانی مقاوم به چنددارو با تکنیک آگار حاوی اتیدیوم بروماید با روش کارت ویل مورد بررسی قرار گرفتند. در ابتدا سویه‌های مقاوم به چند دارو بر روی پلیت‌های نوترینت آگار (Merck) حاوی غلظتهای ۰/۲۵ تا ۲/۵میلی‌گرم برلیتر اتیدیوم بروماید به صورت یک خط از مرکز محیط به سمت کنار محیط کشت داده شدند. پلیت‌ها به مدت۲۴ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. میزان فلورسنت به این صورت بررسی شد: سویه‌هایی که کمترین غلظت اتیدیوم بروماید که درآن خاصیت فلورسنت نشان میدادند ۰/۲۵در نظر گرفته شد، فاقد فعالیت افلاکس و سویه‌هایی که کمترین غلظت اتیدیوم بروماید آنها ۰/۲۵ نبود، دارای فعالیت افلاکس بودند. سویه‌هایی که درهیچ یک از غلظتهای اتیدیوم بروماید خاصیت فلورسنت نداشتند به عنوان سویه‌های فعال شدید پمپ افلاکس درنظرگرفته شدند. سپس به منظور بررسی تاثیر آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و جنتامیسین در تست کارت ویل هم زمان با افزودن اتیدیوم بروماید داخل پلیت، هر یک از آنتی‌بیوتیک‌ها به میزان ۱/۲ غلظت MIC افزوده شد و به روش کارت ویل کشت داده شد و میزان فلورسنت بررسی گردید.

بررسی مولکولی بیان ژن‌های پمپ افلاکس

ابتداRNA تمام سویه‌های جداسازی شده به روش فنوتیپی با استفاده از محلول‌های ترایزول کلروفورم ایزوپروپانول و DEPC استخراج گردید. سپس واکنش رونویسی معکوس (سنتز cDNA) انجام شد.

به منظور بدست آوردن رقت‌های یکسان از نمونه‌های RNA استخراج شده، OD تمام نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شده و رقت‌های یکسان از RNA جهت ساخت cDNA مورد محاسبه قرار گرفت.cDNA توسط کیت شرکت آمپلیکون کره و بر اساس پروتکل کیت ساخته شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد قرار گرفت.

پس از سنتزcDNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) میزان بیان ژن‌های مورد نظردراسینتوباکترهای جدا شده از نمونه‌های بالینی توسط تکنیکRT_PCR بررسی شد.

جدول۱: توالی پرایمرهای ژن‌های پمپ افلاکس(*adeA*،*adeB* و *abeM*)

ژن	اندازه باند	توالی	منابع
adeA	73bp	TTGATCGTGCTTCTATTCCTCAAG GGCTCGCCACTGATATTACGTT	۲۰
adeB	99bp	TACGCTTATTCCAGCGATTG CCGAACATGGTGAGTACGTT	۱۹
abeM	120bp	GCTATTCCGAAGCATTAGGC CCAAAGCAGGTATTGGTCCT	۱۹
16S rRNA	427 bp	GACGTA CTC GCA GAA TAA GC TTA GTC TTG CGA CCG TAC TC	۲۰

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/aums.10.2.241]

مواد مورد نیاز جهت انجام واکنش PCR عبارت است از Distilled water به مقدار۹/۵میکرولیتر، Master Mix PCR 2X به مقدار ۱۲/۵ میکرولیتر، Primer(F&R) به غلظت DNA،۱۰pmol به مقدار(10-20ng/ml) وTotal Volume به مقدار ۲۵ میکرولیتردر ادامه واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر با شرایط دمایی مشخص به صورت واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹٤ درجه سلسیوس به مدت ۵۵ ثانیه، اتصال در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۵۵ ثانیه وطویل شدن در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام شد و در نهایت محصولاتPCR بر روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز گردید و بیان ژن‌های *AbeM*،*AdeB*،*AdeA* برای هر سویه تعیین گردید.

آنالیز آماری

جهت بررسی بیان ژنهای مورد مطالعه از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ و آزمون تست مربع کای و آزمون ناپارامتریک اسپیرمن استفاده شد.

نتایج

براساس نتایج به دست آمده از تست‌های تعیین حساسیت به روش دیسک دیفیوژن در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی نسبت به سیپروفلوکساسین ۱۰۰٪، تتراسایکلین ٤٦/٤٪، ایمیپنم ۱۰۰٪ و جنتامیسین۹۲/۸٪ مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشاهده شد. بنابراین همه سویه‌ها دارای مقاومت چند دارویی می‌باشند(مقاومت چند دارویی عبارتست از مقاومت حداقل به ۳ کلاس آنتی‌بیوتیکی).

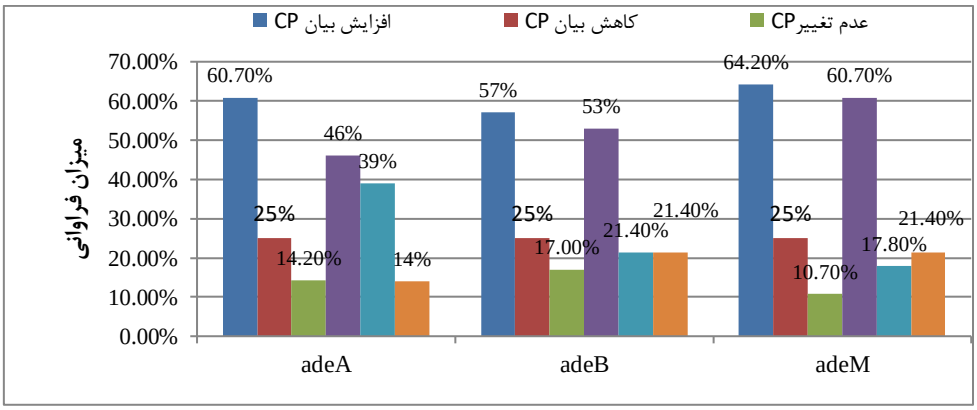
نتایج تشخیص فنوتیپی پمپ افلاکس سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* به روش کارت ویل قبل و بعد از اثر دو آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و جنتامیسین:

برای این منظور همه ایزوله‌های مورد مطالعه با تکنیک آگار حاوی اتیدیوم بروماید به روش چرخ دنده ای یا کارت ویل کشت داده شدند که نتایج آن به صورت ٦۰/۷۱ ٪ از نمونه‌ها افلاکس قوی و ۳۹/۲۸٪ از نمونه‌ها افلاکس متوسط داشتند.

برای این منظور همه ایزوله‌های مورد مطالعه با تکنیک آگار حاوی اتیدیوم بروماید به همراه نصف غلظتMIC به روش کارت ویل کشت داده شدند بررسی‌ها نشان داد که نتایج تشخیص فنوتیپی پمپ افلاکس سویه‌های اسینتوباکتربومانی به روش کارت ویل بعد از اثرآنتی بیوتیک با نتایج قبل از اثر آنتی‌بیوتیک یکسان بود.

نتایج بررسی بیان ژنوتیپی پمپ افلاکس *abeM*, *adeB*, *adeA* در حضور دوآنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین و جنتامیسین :

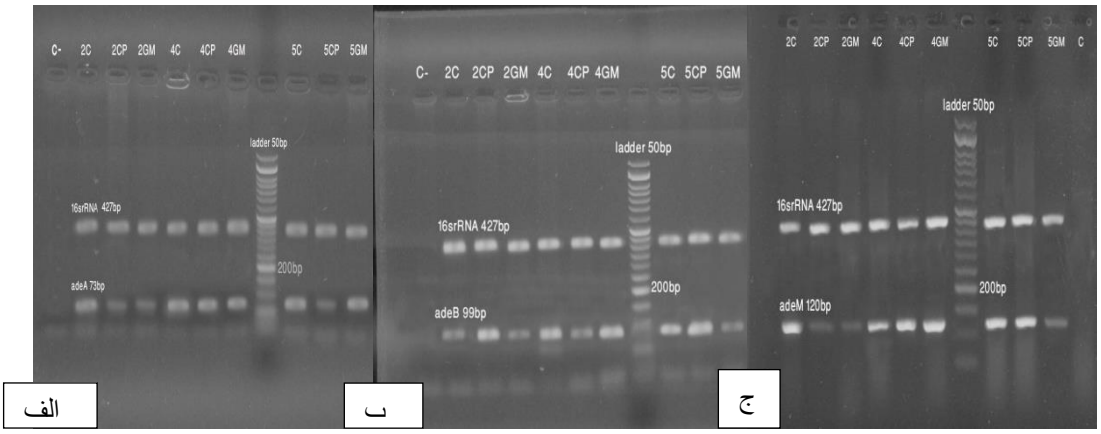
میزان تغییرات بیان ژن *abeM*, *adeB*, *adeA* در باکتری‌های رشد یافته در حضور آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین و سیپروفلوکساسین به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت. اندازه باند *AdeA* 73bp، اندازه باند *AdeB* 99bp، اندازه باند *AbeM* 120bp که به همراه *16srRNA* 427bp به عنوان ژن house keeping تکثیر گردید. نتایج به صورت زیر به دست آمد(نمودار۱، شکل۱).



نمودار۱: میزان بیان ژن‌های *abeM*, *adeB*, *adeA* تحت تاثیر آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و جنتامیسین

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/aums.10.2.241]



شکل ۱ : الف): بیان ژن AdeA ب) بیان ژن AdeB ج) میزان بیان adeM،نمونه‌های C: کنترل که تحت تاثیر آنتی‌بیوتیک نبودند، نمونه‌های CP: تاثیرآنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، نمونه‌های GM: تحت تاثیر آنتی‌بیوتیک جنتامیسین

در بررسی آماری که به روش آزمون مربع کای و آزمون ناپارامتریک اسپیرمن انجام شد بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سیپروفلوکساسین و بیان ژن (pvalue:0.92), adeA(pvalue:0.211) adeB وadeM (pvalue:0.211)ارتباط معنی داری مشاهده نشد. همچنین بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جنتامیسین و بیان ژن adeA (pvalue:0.605), adeB (pvalue:0.327 وadeM (pvalue:0.845) ارتباط معنی داری مشاهده نشد.

بحث

اسینتوباکترها به عنوان یکی از علل عمده عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی از جمله، پنومونی، سپتی سمی، عفونت‌های دستگاه ادراری، عفونت زخم و مننژیت شناخته شده است و به علت ظهور سویه هایی با مقاومت چند دارویی(MDR:Multi Drug Resistant و XDR: Extensively drug resistant) به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولون‌ها یا اغلب کلاس‌ها مقاوم‌اند[۲۱].

طی مطالعهWieczoreK و همکاران در سال ۲۰۰۸ نقش اصلی در مقاومت دارویی نسبت به اریترومایسین وسایر داروهایی همچون کلرآمفنیکل را افزایش بیان ژن *adeABC* عنوان کردند[۲۲]. در حالی که در این مطالعه مشخص شد که در حضور سیپروفلوکساسین *adeAB* حدود ۶۰٪ افزایش بیان و در حضور جنتامیسین حدود ۵۰٪ افزایش بیان مشاهده شد.

Ruzin و همکاران در سال ۲۰۱۰ با مطالعه ایزوله‌های بالینی نشان دادند که ارتباط معنی داری میان میزان بیان پمپ افلاکس و میزان MIC سیپروفلوکساسین و جنتامیسین وجود دارد. علاوه بر این نشان داده شد که افزایش بیان پمپ افلاکس *adeABC* یک مکانیسم رایج کاهش حساسیت به تایگی‌سایکلین در این باکتری میباشد[۲۳]. در این مطالعه مشخص شد که بین بیان پمپ افلاکس و MIC آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین(pvalue:0.205) و جنتامیسین(pvalue:0.498) رابطه معنی داری وجود ندارد.

Wong و همکاران در سال۲۰۰۹ بابررسی ایزوله های مقاوم به کاربانم نشان دادند که حضور ژن‌های *adeABC* نقش مهمی در مقاومت سویه های *اسینتوباکتربومانی* دارد[۱۷] در این مطالعه مشخص شد مقاومت بالا به دو آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و جنتامیسین ارتباطی به وجود ژن‌های *adeAB* و *abeM* ندارد.

Bratu و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که افزایش بیان *adeABC* نقش چندانی در مقاومت به آمینوگلیکوزیدها یا فلورکینولون‌ها ایفا نمیکند، ولی با کاهش حساسیت به تایگی سایکلین مرتبط است. علاوه براین نشان دادند که بیان *adeM*، با مقاومت آنتی بیوتیکی ارتباطی ندارد[۲۴].مطالعه انجام شده در این تحقیق مطابق نتایج Bratu بود که نشان داد افزایش بیان *adeAB* نقشی در مقاومت به آمینوگلیکوزید (جنتامیسین) و فلوروکینولون

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOI: 10.29252/aums.10.2.241]

(سیپروفلوکساسین) ندارد.

Nemec و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که ژن‌های *adeABC* به وفور در سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* یافت میشوند ولی در برخی سویه‌های کاملا حساس وجود ندارد، علاوه بر این نشان داده شد که مقاومت چند دارویی نمایانگر افزایش بیان*adeABC* می‌باشد[۲۵].مطابق با مطالعه Nemec در این مطالعه مشاهده شد در سویه‌های با مقاومت چند دارویی میزان بیان *adeAB* و*abeM* بالاست.

درسال ۱۳۹۶ بهداد و همکاران اثرات ضد پمپ افلاکسی نانو ذرات نقره در سویه‌های بالینی مقاوم به دارو *اسینتوباکتربومانی* را بررسی کردند و نتایج روش کارت ویل نشان داد که از میان ۲۱ سویه *اسینتوباکتربومانی* ۱۲سویه دارای پمپ افلاکس فعال هستند. همچنین میزان MIC اتیدیوم بروماید در سویه‌های مقاوم به همراه نانو ذرات نقره با کاهش همراه بود[۲۶].

در سال ۱۳۹۷ طاهریان فرد و همکاران با بررسی فنوتیپی فعالیت پمپ افلاکس و اثر مهاری نانوذره‌ها بر این پمپ با روش کارت ویل آگار اتیدیوم بروماید به این نتیجه رسیدند که ۷۵٪ سویه‌ها دارای پمپ افلاکس فعال بودند و نانوذره آلبومین ۰/۵ گرم، پمپ افلاکس ۳۷٪ از سویه‌ها را در حداقل غلظت اتیدیوم بروماید مهار کرد[۲۷].

نتایج این مطالعه بیانگر این است که از لحاظ آماری بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سیپروفلوکساسین و جنتامیسین و بیان ژن‌های مطالعه شده در حضور سیپروفلوکساسین و جنتامیسین و نوع پمپ افلاکس ارتباط معنی داری وجود ندارد و همچنین بین مطالعه پمپ افلاکس به روش فنوتیپی و روش مولکولی بیان ژن‌های مورد بررسی در حضور سیپروفلوکساسین و جنتامیسین نیز ارتباط معنی داری وجود ندارد که این مطالعه مشابه مطالعهBratu و همکاران در سال ۲۰۰۸ بود.

نتیجه‌گیری

با توجه به بررسی فنوتیپی کارت ویل در حضور و عدم حضور آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین و سیپروفلوکساسین در بیان فنوتیپی تغییری مشاهده نشد، در حضور سیپروفلوکساسین *AdeAB* حدود ٪۶۰ افزایش بیان و در حضور جنتامیسین حدود ۵۰٪ افزایش بیان مشاهده شد. بنابراین در سویه‌های با مقاومت چند دارویی ژن‌های پمپ افلاکس بیان میگردد و پروتئین‌های درگیر در افلاکس به صورت غیر اختصاصی در انتقال دارو به خارج سلول باکتری نقش دارد. درنتیجه نیمی از موارد مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به پمپ افلاکس است و در نیم دیگر موارد مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به عوامل دیگری است که البته در این مورد باید بطور همزمان بیان ژن‌های اختصاصی وپمپ افلاکس در سویه‌ها مورد مطالعه قرارگیرد.

References

1. Montefour K, Frieden J, Hurst S, Helmich C, Headley D, et al. Acinetobacter baumannii: an emerging multidrug-resistant pathogen in critical care. Crit Care Nurse 2008: 28,15-25
2. James h. Jorgensen, karen c. Carroll, guidofunke, michael a. Pfaller, Manual of clinical microbiology 2015: 11th edition,.ch44. P:813,
3. Bitrian, Mariana; González, Rodrigo H.; Paris, Gaston; Hellingwerf, Klaas J.; Nudel, Clara B.. "Blue-light-dependent inhibition of twitching motility in Acinetobacter baylyi ADP1: additive involvement of three BLUF-domain-containing proteins". Microbiology 2013, 159 (Pt 9): 1828–1841.
4. Antunes, LCS; Visca, P; Towner, KJ. Acinetobacter baumannii: evolution of a global pathogen. Pathogens and Disease 2014: 71(3); 292–301.
5. Richmond GE, Chua KL, Piddock LJ.Efflux in Acinetobacter baumannii can be determined by measuring accumulation of H33342 (bis-benzamide). J Antimicrob Chemother 2013: 68; 1594-1600..
6. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(10):3471–84.
7. Damier-Piolle L, Magnet S, Brémont S, et al. AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in Acinetobacter baumannii. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2008;52:557-62.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/aums.10.2.241]

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

9. Pagès, J. M., Amaral, L., and Fanning, S. An original deal for new molecule: reversal of efflux pump activity, a rational strategy to combat Gram-negative resistant bacteria. Curr. Med. Chem. 2011:18; 2969–2980

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

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

12. Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J Porins, efflux pumps and multidrug resistance in Acinetobacter baumannii. J Antimicrob Chemother 2007 ; 59: 1210-121.

13.Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, Lambert T. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in Acinetobacterbaumannii is regulated by the AdeRS two-component system. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:3298-304.

14. Piddock LJ. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. Clin Microbiol Rev. 2006:19; 382-402.

15.Vila J, Martínez JL. Clinical impacts of the over-expression of efflux pump in nonfermentative Gram-negative bacilli, development of efflux pump inhibitors. Curr Drug Targets 2008; 9:797-807.

16. Nikasa P. Antibiotic resistance of clinical isolates of Acinetobacter baumannii in the presence of efflux pump inhibitor. Infect Dis Trop Med 1387; 42:19-23.

17. Wong EW, Yusof MY, Mansor MB, Anbazhagan D, Ong SY, Sekaran SD. Disruption of adeB gene has a greater effect on resistance to meropenems than adeA gene in Acinetobacter spp. isolated from University Malaya Medical Centre. Singapore Med J 2009;50:822-26.

18. Huang L, Sun L, Xu G, Xia T. Differential susceptibility to carbapenems due to the AdeABC efflux pump among nosocomial outbreak isolates of Acinetobacter baumannii in a Chinese hospital. Diagn Microbiol Infect Dis. 2008; 62:326-32.

19. Bratu S, Landman D, Martin DA,Georgescu C, Quale J. Correlation of Antimicrobial Resistance with _-Lactamases, theOmpA-Like Porin, and Efflux Pumps in Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii Endemic to New York City_Antimicrobial Agents And Chemotherapy 2008:52(9); 2999–3005.

20. Ruzin A, Keeney D, Bradford PA. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in Acinetobacter calcoaceticus–Acinetobacter baumannii complex. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2007: 59;1001–1004.

21.Hindiyeh M, Smollen G, Grossman Z, Ram D, Davidson Y, Mileguir F. Rapid Detection of blaKPC Carbapenemase Genes by Real-Time PCR. J ClinMicrobiol. 2008; 46(9): 2879–83.

22. Wieczorek P, Sacha P, Hauschild T, Zórawski M, Krawczyk M, Tryniszewska E. Multidrug resistant Acinetobacterbaumannii--the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. Folia Histochem Cytobiol. 2008; 46:257-67.

23. Ruzin A, Immermann FW, Bradford PA. RT-PCR and statistical analyses of adeABC expression in clinical isolates of Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex. Microb Drug Resist. 2010; 16:87-89.

24. Bratu S, Landman D, Martin DA, Georgescu C, Quale J. Correlation of antimicrobial resistance with betalactamases, the OmpA-like porin, and efflux pumps in clinical isolates of Acinetobacter baumannii endemic to New York City. Antimicrob Agents Chemother. 2008; 52:2999-3005.

25. Nemec A, Maixnerová M, van der Reijden TJ, van den Broek PJ, Dijkshoorn L. Relationship between the AdeABC efflux system gene content, netilmicin susceptibility and multidrug resistance in a genotypically diverse collection of Acinetobacter baumannii strains. J Antimicrob Chemother. 2007; 60:483-89.

26. Behdad R, Mirzaie A, ShohrehZareKarizi , Green synthesis of silver nanoparticle using Acroptilonrepensextractand evaluation of its anti-efflux activity against Acinetobacter baumanni clinical isolates , Journal of Microbial World 2017 ; Volume 10, No. 3.

27. Taherian S, Aghdami A. Design and manufactur of nano-inhibitor drugs in a clinical strain of Acinetobacter baumannii Resisant to imipenem. NCMBJ 1397;8(32);31-42.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/aums.10.2.241]

AUMJ Alborz University of Medical Sciences Journal, April 2021, Vol. 10, No. 2: 241-248 Original Article

Mehraneh Ardestani[1], Fatemeh Noorbakhsh[1*], Rabee Khoshnevis Zade[2]

[1] *Department of Microbiology, Biological Science college,Varamin-pishvabranch,Islamic Azad university, Varamin-Pishva,Iran*
[2] *Department of Biophysics, Biological Science college,Varamin-pishvabranch,Islamic Azad university, Varamin-Pishva,Iran*

Evaluation of Phenotypic and Genotypic Expression of Efflux Pumpin Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* Resistant to Ciprofloxacin and Gentamicin

Received: 26 Jul 2019 ; Accepted: 15 Dec 2020

Abstract

Introduction: Acinetobacter baumannii is an important bacteria because of high ability to obtain antibiotic resistance genes and creation of multi-drug resistant strains (MDR). Today, the active efflux pumps has been suggested as one of the most important mechanisms of intrinsic and acquired resistance of antibiotics in bacteria. The aim of this study was Evaluation of phenotypic and genotypic expression of efflux pumpin clinical isolates of Acinetobacter baumannii resistant to ciprofloxacin and gentamicin.

Method: Twenty eight strains of Acinetobacter baumannii were isolated from wound of patients were admitted to Tehran heart hospital and diagnosed by biochemical tests. Antibiotic susceptibility of isolates was determined by disc diffusion method according to CLSI. Cartwheel method was used to determine the activity of the efflux pump after determining the antibiotic resistant profile, the expression of adeA, AdeB and AbeM gene evaluated by RT-PCR

Results: Antibiotic susceptibility test of isolated Acinetobacter baumannii show a high resistance to ciprofloxacin, gentamicin, tetracycline and imipenem antibiotics in all strains. The results of the cartwheel were identical before and after the administration of the ciprofloxacin and gentamicin antibiotics. Also Antibiotic resistance to the gene expression of adeA, adeB and abeM were up to 50%.

conclusion:Evalution of phenotypic result of efflux and gene expression of the efflux pump indicates that, there is no significant relationship between the efflux pump in phenotypic method and the molecular method of gene experssion of adeA, adeB, abeM in presences of to ciprofloxacin and gentamicin.

Keyword: Acinetobacter baumannii, MDR, Genes, Ciprofloxacin, Gentamicin

***Corresponding Author:**
Department of Pediatric Surgery, Maryam Hospital, Karaj, Iran

Tel:09122043654
E-mail: niloofar_noorbakhsh@yahoo.com

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/aums.10.2.241]